



**PENGUJIAN ANTIOKSIDAN PADA KOMBUCHA SALAK (*Salacca
zalacca*) DARI DESA SUWARU DENGAN VARIASI PENAMBAHAN
KONSENTRASI GULA DAN KULTUR**

SKRIPSI

Oleh:
LAVENIA YUANITA
135100100111050



JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG
2017



**PENGUJIAN ANTIOKSIDAN PADA KOMBUCHA SALAK (*Salacca
zalacca*) DARI DESA SUWARU DENGAN VARIASI PENAMBAHAN
KONSENTRASI GULA DAN KULTUR**

Oleh :
LAVENIA YUANITA
135100100111050

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pertanian



JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG

2017



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Pengujian Antioksidan Pada Kombucha Salak
(*Salacca zalacca*) Dari Desa Suwaru Dengan

Variasi Penambahan Konsentrasi Gula Dan
Kultur Kombucha

Nama Mahasiswa : Lavenia Yuanita

NIM : 135100100111050

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing,

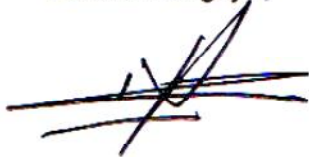
Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP.
NIP. 19590821 199303 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : Pengujian Antioksidan Pada Kombucha Salak
(*Salacca zalacca*) Suwaru Dengan Variasi
Penambahan Konsentrasi Gula Dan Kultur
Kombucha
Nama Mahasiswa : Lavenia Yuanita
NIM : 135100100111050
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Penguji I,



Dr. Ir. Joni Kusnadi, M.Si
NIP. 19620612 198703 1 031

Dosen Penguji II,



Kiki Fibrianto, STP., M.Phil., PhD
NIP. 19820206 200501 1 001

Dosen Penguji III,



Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP.
NIP. 19590821 199303 2 001

Ketua Jurusan,



Prof. Dr. Teti Estiasih, STP. MP.
NIP. 19701226 200212 2 001

Tanggal Lulus :

**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Lavenia Yuanita

NIM : 135100100111050

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Judul Skripsi : Pengujian Antioksidan Pada Kombucha Salak
(*Salacca zalacca*) Suwaru Dengan Variasi
Penambahan Konsentrasi Gula Dan Kultur
Kombucha

Menyatakan bahwa,

Skripsi dengan judul di atas merupakan karya asli penulis tersebut di atas.
Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar saya bersedia
dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, 22 Agustus 2017

Pembuat Pernyataan,

Lavenia Yuanita

NIM 135100100111050



RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kota Kediri Provinsi Jawa Timur pada tanggal 2 Juni 1995 dari seorang ayah yang bernama Ali Anggara dan seorang ibu yang bernama Ir. Lilik Andriani. Penulis merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara dengan kakak laki – laki bernama Yudha Kurniawan, S. Sn, MM. dan kakak perempuan bernama Sheilla Ardilla, S. Kom.

Penulis menyelesaikan pendidikan tingkat sekolah dasar di SD Katolik Santo Yoseph Kediri pada tahun 2007, pendidikan tingkat sekolah menengah pertama di SMP Negeri 1 Kediri pada tahun 2010 dan pendidikan tingkat sekolah menengah atas di SMA Katolik Santo Augustinus Kediri pada tahun 2013. Pada tahun 2017 penulis telah berhasil menyelesaikan pendidikan di Universitas Brawijaya Malang di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian.

Pada masa pendidikannya penulis aktif dalam kegiatan organisasi, diantaranya pada tahun 2013-2014 penulis terdaftar sebagai staff muda Keluarga Mahasiswa Katolik (KMK) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya dan Unit Aktivitas Kerohanian Katolik (UAKKat) Universitas Brawijaya, tahun 2014-2015 penulis terdaftar sebagai Sekretaris Umum Keluarga Mahasiswa Katolik (KMK) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya dan staff bidang 3 Unit Aktivitas Kerohanian Katolik (UAKKat) Universitas Brawijaya serta pada tahun 2015-2016 penulis tercatat sebagai Ketua Umum Keluarga Mahasiswa Katolik (KMK) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Selain kegiatan organisasi, penulis juga aktif sebagai Asisten Praktikum Mikrobiologi Umum. Penulis juga terlibat dalam kepanitiaan seperti Camping Rohani KMK sebagai Sekretaris Umum, Jambore Rohani UAKKat sebagai Ketua Divisi Konsumsi, Orientasi Pengenalan Jurusan dan Himpunan Teknologi Hasil Pertanian (HIMALOGISTA) sebagai Sekretaris II, Panitia Pengawas (PANWAS) Pemilihan Wakil Mahasiswa (PEMILWA) Fakultas Teknologi Pertanian, Dies Natalis UAKKat XXVI sebagai Sekretaris Pelaksana, Natal Bersama Civitas Akademik Universitas Brawijaya sebagai Bendahara Umum, Paskah Bersama Civitas Akademik Universitas Brawijaya sebagai Ketua Divisi Hubungan Masyarakat (Humas), dan Great Event KMK FTP UB sebagai Sekretaris Umum.



LAVENIA YUANITA, 135100100111050. Pengujian Antioksidan dan Karakteristik Fisikokimia pada Kombucha Salak (*Salacca Zalacca*) Suwaru dengan Variasi Penambahan Konsentrasi Gula Dan Kultur Kombucha. SKRIPSI.

Pembimbing : Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP.

RINGKASAN

Salak merupakan spesies tanaman palma asli dari Indonesia. Di daerah Malang, ada beberapa desa yang fokus membudidayakan salak, salah satunya adalah Desa Suwaru. Salak Suwaru memiliki flavour yang lebih sepat dan asam bila dibandingkan dengan varietas salak lainnya. Rasa sepat dan asam disebabkan oleh kandungan tanin yang tinggi pada salak Suwaru, padahal senyawa tanin memiliki fungsi sebagai antioksidan. Rasa sepat dan asam pada salak Suwaru tidak disukai masyarakat sehingga perlu adanya pengolahan lain agar dapat meningkatkan nilai ekonomisnya. Salah satunya adalah dengan mengolah salak Suwaru menjadi kombucha. Kombucha merupakan minuman tradisional dari negeri China yang memanfaatkan bakteri dan khamir sebagai starter dalam minuman teh. Saat ini, kombucha mulai digemari masyarakat karena manfaatnya yang sangat baik bagi tubuh. Selain sebagai minuman konvensional, kombucha juga dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional untuk mencegah penyakit degeneratif seperti kanker dan tekanan darah tinggi. Sifat antioksidan dalam kombucha dipengaruhi oleh adanya senyawa aktif yaitu asam – asam organik seperti asam asetat, asam laktat, asam glukonat, dan asam glukoronat. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakteristik dan aktivitas antioksidan dalam kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur.

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan 2 faktor yaitu variasi penambahan gula (7,5%, dan 10%) dan penambahan kultur (5%, 7,5%, dan 10%) sehingga didapatkan 6 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan (18 unit). Data yang diperoleh kemudian dianalisa dengan menggunakan ANOVA selang kepercayaan 5%. Bila data tidak ada interaksi, namun disalah satu faktor perlakuan terdapat beda nyata maka dilakukan uji BNT 5%. Jika terdapat interaksi antara kedua faktor maka dilanjutkan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode *Zeleny*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kultur dan gula memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap parameter total asam, pH, total fenol, total flavonoid, dan pengujian organoleptik baik rasa, warna, dan aroma. Perlakuan penambahan gula memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap parameter total gula, nilai kemerahan, dan aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} . Perlakuan penambahan kultur ($\alpha = 0,05$) berpengaruh nyata terhadap parameter nilai kecerahan (L^*) dan nilai kekuningan (b^+). Perlakuan terbaik kombucha salak Suwaru dengan penambahan gula dan kultur masing – masing sebesar 10% memiliki karakteristik fisik, kimia, dan mikrobiologi sebagai berikut: total bakteri $5,5 \times 10^6$ CFU/mL, total khamir $6,1 \times 10^8$ CFU/mL, total asam 1,41%, pH 2,75, total gula 7,45%, total fenol 553,43 mg/L, total flavonoid 1,72 mg QE/mL, nilai IC_{50} 137,45 mg/mL, tingkat kecerahan (L^*) 45,23, tingkat kemerahan (a^+) 0,83, tingkat kekuningan (b^+) 14,32, organoleptik rasa 4,74 (netral), organoleptik warna 4,52 (netral), organoleptik aroma 4,37 (netral).

Kata Kunci : Antioksidan, Kombucha, Salak Suwaru, Gula, Kultur



LAVENIA YUANITA. 135100100111050. Study of Antioxidant and Characterization of Physicochemical in Kombucha Salak (*Salacca zalacca*) Suwaru with Variations of Addition Sugar and Kombucha Culture Concentration. FINAL PROJECT. Supervisor : Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP.

SUMMARY

Salak is a native species of palm trees from Indonesia. In Malang area, there are several villages that focus on cultivating salak, one of them is Suwaru Village. Salak Suwaru differs by its more spicy and acidic flavor compared to other salak varieties. Spicy and acidic taste is caused by high tannin content in Suwaru Salak, which is also an antioxidant. Its higher level of spicy and acidic flavor are not favored by the community therefore it is necessary to process the fruit further in order to increase its economic value. One of them is by fermenting Salak Suwaru into kombucha. Kombucha is a traditional drink from China that utilizes bacteria and yeast as starter in tea drinks. Currently, kombucha began to be popular with the community because the benefits are very good for the body. In addition to conventional drinks, kombucha can also be used as a functional beverage to prevent degenerative diseases such as cancer and high blood pressure. The antioxidant properties in kombucha are influenced by the presence of active compounds ie organic acids such as acetic acid, lactic acid, gluconic acid, and glucuronic acid. The purpose of this research is to know the characteristics and activities of antioxidants in kombucha salak Suwaru with various variations of sugar and culture additions.

The research method used is Factor Randomized Block Design (RAK) with 2 factors, which are variation of sugar addition (7,5%, and 10%) and addition of culture (5%, 7,5%, and 10%) to get 6 combination of treatment With 3 replicates (18 units). The data obtained were then analyzed using ANOVA 5% confidence interval. If there is no interaction between the data, but in one treatment factor appears significant difference then BNT 5% test is conducted. If there is an interaction between the two factors then continued DMRT test (Duncan's Multiple Range Test). Selection of best treatment using Zeleny method.

The results showed that the addition of culture and sugar treatment gave significant effect ($\alpha = 0,05$) to the total acid, pH, total phenol, total flavonoid, and organoleptic preference of taste, color and aroma. The addition of sugar treatment gave significant effect ($\alpha = 0,05$) to total sugar, redness value, and antioxidant activity indicated by IC_{50} value. Treatment of culture addition ($\alpha = 0,05$) had significant effect on brightness value parameter (L^*) and yellowish value (b^+). The best treatment of kombucha salak Suwaru with 10% sugar and culture additions have the following physical, chemical, and microbiological characteristics: total bacteria $5,5 \times 10^6$ CFU / mL, total yeast $6,1 \times 10^8$ CFU / mL, total Acid 1.41%, pH 2.75, total sugar 7.45%, total phenol 553.43 mg / L, total flavonoid 1.72 mg QE / mL, IC_{50} value 137.45 mg / mL, brightness level (L^*) 45,23, redness level (a^+) 0.83, yellowishness (b^+) 14.32, organoleptic taste 4.74 (neutral), organoleptic color 4.52 (neutral), organoleptic aroma 4.37 (neutral).

Keywords: Antioxidant, Kombucha, Salak Suwaru, Sugar, Culture

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan anugerah-Nya penyusun dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Penguji-an Antioksidan pada Kombucha Salak (*Salacca Zalacca*) Suwaru dengan Variasi Penambahan Konsentrasi Gula dan Kultur” dengan baik. Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian. Penyusun juga ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan Tugas Akhir ini, diantaranya:

1. Tuhan Yesus yang selalu memberkati setiap proses dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
2. Kedua orang tua, Ali Anggara dan Lilik Andriani, kakak – kakakku, Yudha Kurniawan dan Sheila Ardilla serta nenek yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan yang terbaik untuk penulis.
3. Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, ilmu dan pengetahuan kepada penulis.
4. Suamiku yang terkasih, Stanislaus Deo Susetyo Dewantara yang telah setia, sabar dan selalu memberikan dukungan, serta anakku Constantinus Logan Susetyo Dewantara yang selalu menjadi penyemangat untuk menyelesaikan tugas akhir ini
5. Rekan skripsiku, Pascalis Ciptaning Hyang, yang telah menemani, berbagi ilmu, dan menghibur selama mengerjakan penelitian
6. Teman – teman THP 13 yang telah menjadi teman seperjuangan selama berada di bangku perkuliahan, khususnya Khairunnisa Nurdiani, Widhianti Nila Pangestu, Fikriyatul Hanifa, dan Yuniar Rahmaningtyas yang telah setia menjadi sahabatku sejak awal menjadi mahasiswa baru.
7. Semua pihak yang telah membantu penulis selama ini yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu.

Menyadari adanya keterbatasan pengetahuan, referensi, dan pengalaman, penyusun mengharapkan saran dan masukan demi lebih baiknya Tugas Akhir ini. Akhirnya harapan penyusun semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi penyusun maupun semua pihak yang membutuhkan.

Malang, Agustus 2017

Lavenia Yuanita



DAFTAR ISI

SKRIPSI	i
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
RIWAYAT HIDUP	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Salak (<i>Salacca zalacca</i>)	4
2.2 Kandungan Gizi Salak	5
2.3 Senyawa Aktif Pada Salak	6
2.4 Kombucha	9
2.5 Kandungan Kimia Kombucha	10
2.6 Kultur Simbiotik Kombucha	11
2.7 Proses Fermentasi Kombucha	13
2.8 Manfaat Kombucha Bagi Tubuh	14
2.10 Faktor Yang Berpengaruh Pada Pembuatan Kombucha	16
2.11 Radikal Bebas	17
2.12 Antioksidan	18
2.13 Metode Analisa Aktivitas Antioksidan Dengan DPPH	19
BAB III METODE PENELITIAN DAN PELAKSANAAN	21
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	21

xi



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi dalam 100 gram Buah Salak	5
Tabel 2.2 Kandungan Asam Organik Kombucha (ppm) pada Teh Hijau dan Teh Hitam	10
Tabel 2.3 Peran Bakteri dan Khamir pada Proses Fermentasi Kombucha	11
Tabel 2.4 Komponen Asam Organik yang Terkandung dalam Kombucha	15
Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Dua Faktor	22
Tabel 4.1 Karakteristik Bahan Baku	26
Tabel 4.2 Rerata Total Bakteri Kombucha Salak Suwaru Dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula Dan Kultur Selama Fermentasi	28
Tabel 4.3 Rerata Total Khamir Kombucha Salak Suwaru Dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula Dan Kultur Selama Fermentasi	31
Tabel 4.4 Rerata Total Asam Kombucha Salak Suwaru Dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula Dan Kultur Selama Fermentasi	33
Tabel 4.5 Rerata Total Asam Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi	34
Tabel 4.6 Rerata pH Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi	36
Tabel 4.7 Rerata pH Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi	37
Tabel 4.8 Rerata Total Gula Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi	38
Tabel 4.9 Rerata Total Fenol Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi	40
Tabel 4.10 Rerata Total Fenol Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi	41
Tabel 4.11 Rerata Total Flavonoid Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi	43
Tabel 4.12 Rerata Total Flavonoid Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi	44
Tabel 4.13 Rerata Nilai IC ₅₀ Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi	46
Tabel 4.14 Rerata Nilai Kecerahan Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi	48



Tabel 4.15 Rerata Nilai Kemerahan Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi.....	50
Tabel 4.16 Rerata Nilai Kekuningan Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi.....	51
Tabel 4.17 Karakteristik Kombucha Salak Suwaru Perlakuan Terbaik.....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Salak Suwaru.....	4
Gambar 2.2 Struktur Kimia Fenol dan Polifenol	6
Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid	7
Gambar 2.4 Struktur Inti Tanin.....	8
Gambar 2.5 Kombucha Salak Suwaru	9
Gambar 2.6 <i>Scoby</i> Kombucha.....	12
Gambar 2.7 Proses Perubahan Glukosa menjadi Alkohol dan Karbondioksida	13
Gambar 2.8 Proses Oksidasi Etanol dan Perombakan Glukosa oleh Bakteri Asam Asetat.....	14
Gambar 2.9 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan	20
Gambar 3.1 Diagram Alir Proses Pembuatan Sari Salak Suwaru	24
Gambar 3.2 Diagram Alir Proses Pembuatan Kombucha dari Salak Suwaru	25
Gambar 4.1 Perubahan Total Bakteri pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi	27
Gambar 4.2 Perubahan Total Khamir pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi	30
Gambar 4.3 Grafik Perubahan Total Asam pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi	33
Gambar 4.4 Grafik Perubahan pH pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi	35
Gambar 4.5 Hubungan antara Penurunan pH dan Peningkatan Total Asam pada Perlakuan Penambahan Gula dan Kultur pada Kombucha Salak Suwaru.....	37
Gambar 4.6 Grafik Perubahan Total Gula pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi	38
Gambar 4.7 Grafik Perubahan Total Fenol pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi	40



Gambar 4.8 Grafik Perubahan Total Flavonoid pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi.....42

Gambar 4.9 Grafik Perubahan Nilai IC₅₀ pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi.....45

Gambar 4.10 Grafik Perubahan Nilai Kecerahan (L) pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi.....48

Gambar 4.11 Grafik Perubahan Kemerahan (a+) pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi.....49

Gambar 4.12 Grafik Perubahan Kekuningan (b+) pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi.....51

Gambar 4.13 Grafik Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Rasa Kombucha Salak Suwaru.....53

Gambar 4.14 Grafik Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Warna Kombucha Salak Suwaru.....54

Gambar 4.15 Grafik Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Aroma Kombucha Salak Suwaru.....55



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Analisa.....	67
Lampiran 2. Data Hasil Analisa dan Analisa Ragam	74
Lampiran 3. Kuesioner Uji Organoleptik.....	114
Lampiran 4. Perlakuan Terbaik.....	115
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	117

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salak merupakan spesies tanaman palma asli dari Indonesia. Tanaman salak banyak dibudidayakan di beberapa wilayah di Indonesia seperti Jawa, Bali, Lombok, Maluku, dan Sulawesi. Salak menjadi komoditas yang cukup diunggulkan di Indonesia. Produktifitasnya pun sangat tinggi. Di Jawa Timur, produktivitas salak mencapai 81.322 ton di tahun 2014 (Dimiyati *et al.*, 2009). Buah salak memiliki rasa yang manis, sepat, dan sedikit asam. Masyarakat biasanya mengonsumsi buah salak dalam keadaan segar, tetapi salak juga dapat diolah menjadi asinan, dodol, dan juga sari salak. Selain karena rasanya, buah salak juga dikonsumsi karena kandungan gizinya yang baik bagi tubuh. Salak memiliki senyawa antioksidan yang tinggi, sumber serat, dan vitamin. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam salak berupa senyawa fenolik seperti flavonoid, vitamin A, dan vitamin C (Ong dan Law, 2009). Menurut Zubaidah dan Yohanes (2010), sari salak memiliki total fenol sebesar 302 mg/L.

Di daerah Malang, ada beberapa desa yang fokus membudidayakan salak, salah satunya adalah Desa Suwaru. Salak Suwaru memiliki flavour yang lebih sepat dan asam bila dibandingkan dengan varietas salak lainnya. Rasa sepat dan asam ini disebabkan oleh kandungan tanin yang tinggi pada salak Suwaru. Menurut Sulusi *et al.* (1996), kandungan tanin pada salak Suwaru pada umur petik optimal yaitu sebesar 0,27 – 0,45%. Senyawa tanin memiliki fungsi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidannya dibuktikan dengan kemampuannya menghambat tumor (Desmiaty dkk, 2008 dalam Malanggia dkk, 2012). Rasa sepat ini dapat dihilangkan melalui proses pengolahan, satunya adalah dengan mengolah salak Suwaru menjadi kombucha.

Kombucha merupakan minuman tradisional dari negeri China yang memanfaatkan bakteri dan khamir sebagai starter dalam minuman teh. Saat ini, kombucha mulai digemari masyarakat karena manfaatnya yang sangat baik bagi tubuh seperti meningkatkan ketahanan tubuh dan memperbaiki mikroflora usus (Aditiwati dan Kushadi, 2003). Selain sebagai minuman konvensional, kombucha juga dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional untuk mencegah penyakit degeneratif seperti kanker dan tekanan darah tinggi karena memiliki kandungan antioksidan dan antibakteri yang tinggi (Jayabalan *et al.*, 2008). Sifat antioksidan



dalam kombucha dipengaruhi oleh adanya senyawa aktif yaitu asam – asam organik seperti asam laktat, asam asetat, asam askorbat, dan asam galat. Kombucha juga mengandung senyawa polifenol yang memiliki efek sebagai antioksidan yaitu flavonoid dan tanin. Kombucha dibuat dengan menggunakan starter yang disebut sebagai SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) dalam bahasa Inggris. Kultur simbiotik ini terdiri dari bakteri, khususnya *Acetobacterxylinum*, dan khamir, khususnya *Saccharomyces sp.* (Sreeramulu *et al.*, 2000). Kultur inilah yang akan melakukan proses fermentasi dan memerlukan waktu sekitar 10 – 14 hari. Selama fermentasi, kultur simbiotik kombucha akan merombak gula menjadi asam – asam organik dan alkohol (Sucipto, 2000).

Keberhasilan pembuatan minuman kombucha tergantung dari banyak hal, diantaranya konsentrasi gula. Gula sangat berperan penting pada pertumbuhan mikroorganisme dalam kombucha. Gula merupakan sumber nutrisi yang nantinya akan dirombak menjadi asam – asam organik seperti asam asetat sebagai metabolit mikroorganisme dalam kombucha. Konsentrasi gula yang terlalu rendah akan menyebabkan pertumbuhan mikroba yang tidak maksimal. Sedangkan konsentrasi gula yang terlalu tinggi akan menghambat pertumbuhan mikroba. Faktor lain yang mempengaruhi pembuatan kombucha adalah konsentrasi kultur. Keberadaan mikroorganisme dalam kombucha akan mempengaruhi berjalannya proses fermentasi dan banyak sedikitnya metabolit yang dihasilkan. Apabila konsentrasi kultur terlalu rendah, proses fermentasi tidak dapat berjalan secara maksimal, namun jika konsentrasinya terlalu tinggi dapat menyebabkan fermentasi yang berlebihan. Kedua faktor ini tak dapat dipisahkan dan berhubungan secara langsung (Aditiwati dan Kusnadi, 2003).

Pembuatan kombucha dari buah salak diharapkan dapat lebih meningkatkan aktivitas senyawa antioksidan buah salak yang tinggi. Penelitian terhadap karakteristik fisikokimia dan aktivitas antioksidan kombucha dari berbagai varietas salak telah dilakukan oleh Zubaidah dan Dewantari (2016) dengan hasil terbaik kombucha dari salak Suwaru. Penelitian yang sudah ada tersebut hanya menggunakan satu macam perlakuan penambahan gula dan kultur. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian lanjutan pada hasil terbaik yaitu kombucha salak Suwaru dengan kajian variasi penambahan gula dan kultur agar diperoleh karakteristik fisikokimia yang lebih baik dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Perumusan masalah yang dikemukakan dalam penelitian ini adalah pengaruh penambahan gula dan kultur terhadap karakteristik fisikokimia dan aktivitas antioksidan pada kombucha salak Suwaru.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang dikemukakan dalam penelitian ini adalah mengetahui pengaruh variasi penambahan gula dan kultur terhadap karakteristik fisikokimia, organoleptik, dan aktivitas antioksidan pada kombucha salak Suwaru.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat memberi informasi tentang pembuatan kombucha berbahan baku salak Suwaru sebagai upaya penganeekaragaman produk olahan berbasis salak yang bermanfaat sebagai minuman fungsional
2. Meningkatkan nilai ekonomis dan umur simpan salak Suwaru sehingga dapat meningkatkan minat petani salak untuk membudidayakannya

1.5 Hipotesis

Diduga ada perbedaan karakteristik dan aktivitas antioksidan kombucha dari salak Suwaru dengan berbagai macam penambahan gula dan kultur.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Salak (*Salacca zalacca*)

Salak merupakan tanaman palma asli Indonesia yang banyak dibudidayakan di beberapa wilayah seperti Bali, Lombok, Maluku, dan Sulawesi. Namun keberadaannya tidak hanya di Indonesia saja. Di Filipina, Malaysia, Brunei, dan Thailand, salak juga tumbuh dan dibudidayakan. Buah salak memiliki kulit yang bersisik seperti ular sehingga dalam bahasa Inggris disebut dengan *snakefruit*. Kulitnya terkadang berduri dan berwarna coklat kehitaman atau coklat kekuningan. Buahnya sendiri berbentuk segitiga agak bulat atau bulat telur terbalik runcing di pangkalnya dan memiliki rasa yang manis, asam, sepat, atau kombinasi dari ketiganya, tergantung dari tingkat kematangan atau lokasi dimana salak tersebut ditanam (Widyastuti, 1996).



Gambar 2.1 Buah Salak Suwaru (Dokumentasi Pribadi)

Produktivitas salak di Indonesia cukup tinggi. Data dari Kementerian Pertanian Republik Indonesia (2013) menunjukkan bahwa produksi salak pada tahun 2010, 2011, dan 2012 berturut-turut mencapai 749.876, 1.082.115, dan 1.035.406 ton. Di daerah Malang sendiri, ada beberapa desa yang fokus membudidayakan salak. Salah satunya adalah desa Suwaru yang terletak di Kabupaten Malang, Kecamatan Kepanjen. Di desa ini, buah salak tumbuh subur dan memiliki rasa yang khas yang dikenal dengan salak Suwaru. Area produksi di desa Suwaru ini mencapai 800 ha dengan kapasitas produksi sebesar 15 ton per hektarnya. Karakteristik dari salak Suwaru ini memiliki kulit berwarna coklat gelap kehitaman dan berduri. Buahnya memiliki rasa sepat yang dominan, sedikit



asam, dan manis. Buahnya tergolong besar, tebal, dan berair (Bowo dan Sukartiningrum, 2011).

2.2 Kandungan Gizi Salak

Menurut Widuri (2013), salak kaya akan sumber mineral dan vitamin yang baik bagi tubuh. Berikut ini adalah kandungan gizi salak dalam 100 gram bahan :

Tabel 2.1 Kandungan Gizi dalam 100 gram Buah Salak

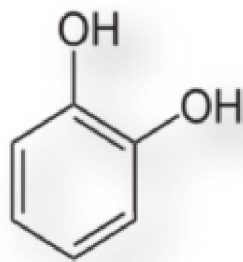
Komponen	Kandungan
Kalori (Kal)	77
Protein (g)	0,4
Lemak (g)	-
Karbohidrat (g)	20,9
Kalsium (mg)	28
Fosfor (mg)	18
Besi (mg)	4,2
Vitamin A (SI)	0
Vitamin B1 (mg)	0,04
Vitamin C (mg)	2
Air (%)	78,0

Sumber : Widuri (2013)

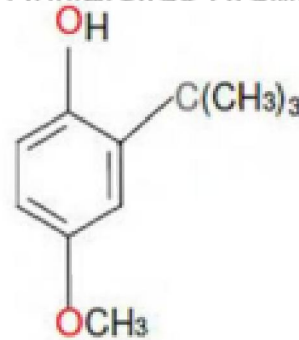
Dari data di atas, dapat diketahui bahwa salak merupakan sumber kalsium yang berguna bagi kesehatan tulang dan gigi selama masa pertumbuhan. Kandungan zat besi yang tinggi pada salak dapat membantu melancarkan peredaran darah. Buah salak juga memiliki kandungan vitamin yang beragam yaitu vitamin A, vitamin B, dan vitamin C yang berguna untuk menjaga ketahanan tubuh (Sobir, 2009). Selain itu, salak juga merupakan sumber serat yang baik karena kandungan karbohidratnya yang tinggi sehingga salak dapat menjadi salah satu pilihan untuk dikonsumsi ketika menjalani program diet. Menurut Hartanto dkk (2000), kandungan terbanyak yang ada dalam buah salak pada kondisi segar adalah sukrosa, kemudian diikuti glukosa dan fruktosa. Kadar air dalam buah salak juga cukup tinggi. Hal ini menyebabkan umur simpan salak hanya bertahan kurang dari satu minggu saja. Oleh karena itu, saat ini banyak yang mengolah salak menjadi berbagai produk guna meningkatkan daya simpannya (Akhmad, 2009).

2.3 Senyawa Aktif pada Salak

Senyawa aktif yang bersumber dari tumbuhan, termasuk sayuran dan buah – buahan, dalam arti luas disebut dengan fitokimia. Fitokimia tidak dibutuhkan untuk fungsi normal tubuh, tetapi memiliki efek yang menguntungkan bagi kesehatan, terutama bagi pencegahan penyakit, namun ketiadaan zat – zat ini tidak akan mengakibatkan penyakit defisiensi dalam jangka waktu normal. Fitokimia yang banyak memberikan manfaat bagi manusia adalah polifenol. Semua senyawa yang memiliki struktur dasar berupa fenol adalah polifenol. Senyawa fenol memiliki ciri yang sama yaitu memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Senyawa fenol mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula membentuk glikosida. Fenol diproduksi tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Harborne, 1987).



fenol



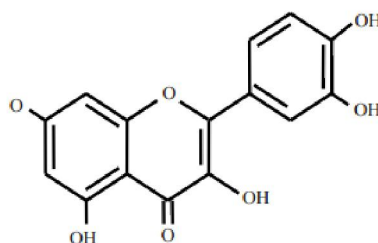
polifenol

Gambar 2.2 Struktur Kimia Fenol dan Polifenol (Hamid, 2010)

Fungsi dari senyawa fenol antara lain sebagai pembentuk dinding sel dan sebagai pemberi warna pada tumbuhan, khususnya daun. Fenol dibagi menjadi dua kelompok yaitu fenol sederhana dan polifenol. Senyawa yang tergolong fenol sederhana yaitu orsinol, resolsinol, katekol, hidroquinon, pirogalol, dan floroglusinol, sedangkan contoh polifenol adalah lignin, melanin, dan tanin (Apak *et al.*, 2007). Saat ini telah banyak dilakukan penelitian terhadap senyawa fenol karena kemampuannya sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Komponen fenolik yang paling penting sebagai antioksidan alami adalah flavonoid (Dalimartha dan Soedibyo, 1999).

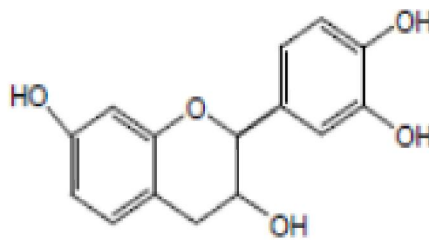


Flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang paling dominan dalam buah salak. Secara kimiawi, flavonoid memiliki cincin aromatik yang tersusun dari 15 atom karbon dengan inti dasar. Pada tanaman, flavonoid memiliki banyak fungsi yaitu proteksi terhadap radiasi UV-B, daya tahan terhadap serangan patogen, dan penarik serangga untuk penyerbukan, sedangkan fungsinya yang berkaitan dengan kapasitas antioksidan yaitu mencegah proses oksidasi makromolekul dengan menghambat tahap inisiasi dan propagatif pada reaksi rantai oksidatif. Fungsi flavonoid sebagai antioksidan didukung oleh kemampuannya yang dapat menginduksi sistem enzim protektif manusia yang menunjukkan efek protektif terhadap penuaan dan penyakit neurodegeneratif seperti Parkinson dan Alzheimer (Mariska, 2009). Flavonoid juga terbukti memiliki kontribusi dalam menghambat oksidasi LDL (*Low Density Lipoprotein*) secara *ex-vivo*. Oksidasi LDL harus dicegah karena produk oksidatif LDL dapat menyebabkan penyempitan pembuluh darah koroner yang dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular. Selain efek kardioprotektif, flavonoid juga memiliki aktivitas antiproliferasi pada sel kanker manusia (Kanner *et al.*, 1994). Menurut Barnes (1996), flavonoid memiliki manfaat sebagai pelindung struktur sel, memiliki hubungan yang sinergis dengan vitamin C sehingga dapat meningkatkan efektivitas vitamin C, sebagai antiinflamasi, pencegah keropos tulang, dan sebagai antiinflamasi.



Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid (Redha, 2010)

Identifikasi senyawa flavonoid dalam suatu bahan biasanya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode ini menggunakan kuersetin sebagai pembanding rutin pada pembuatan kurva standar karena kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya dan 25% terdapat pada tumbuhan. Beberapa contoh senyawa yang tergolong dalam jenis flavonoid adalah flavonon, flavonol, leukoanthosianidin, flavon, antosianidin, deoksiantosianidin, dan antosianin (Mariska, 2009).



Gambar 2.4 Struktur Inti Tanin (Robinson, 1995 dalam Sa'adah, 2010)

Selain flavonoid, senyawa fenolik yang juga dominan terdapat dalam buah salak adalah tanin. Tanin merupakan senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks dari elemen C, H, dan O, serta sering membentuk molekul besar (Risnasari, 2001). Senyawa tanin mempunyai sejumlah gugus hidroksi fenolik dan membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein atau biopolimer lain seperti selulosa dan pektin (Manitto, 1992). Sebenarnya, tanin termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid karena dilihat dari strukturnya yang memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon (Hayati dkk, 2010). Tanin disebut juga dengan asam tanat atau asam galotanat. Senyawa inilah yang memberikan rasa sepat pada salak. Tanin mempunyai beberapa fungsi yaitu sebagai astrigen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan. Aktivitas antioksidan pada tanin dibuktikan dengan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti reverse transkriptase dan DNA topoisomerase (Desmiaty dkk, 2008 dalam Malanggia dkk, 2012).

Keberadaan kedua senyawa fenolik ini menyebabkan tingginya aktivitas antioksidan dalam buah salak, bahkan lebih tinggi dari buah tropis lainnya seperti manggis, alpukat, jeruk, pepaya, mangga, kiwi, lemon, nanas, apel, rambutan, pisang, melon, dan semangka (Aralas dkk, 2009). Selain flavonoid dan tanin sebagai senyawa aktif yang paling dominan, salak juga mengandung beberapa senyawa aktif lainnya seperti alkaloid, terpenoid, kuinon, katekin, saponin, karotenoid, dan likopena. Beberapa varietas buah salak juga memiliki kandungan asam – asam organik seperti asam askorbat, asam sitrat, asam adipat, dan asam malat (Setiawan *et al.*, 2001; Leong & Shui 2002; Muchtady, 1978; Suter, 1988 dalam Sahputra, 2008).

2.4 Kombucha



Gambar 2.5 Kombucha Salak Suwaru (Dokumentasi Pribadi)

Kombucha merupakan minuman tradisional yang berasal dari negeri China. Minuman ini sudah terkenal sejak 3000 tahun yang lalu. Pada tahun 221 SM, orang-orang china telah mengenal dan mulai mengonsumsi teh kombucha ini. Khasiatnya yang sangat baik bagi kesehatan kala itu, membuat minuman ini disebut sebagai “tea of immortality” atau teh kehidupan kekal. Kombucha berasal dari kata “Kombu” dan “Cha”. Kombu merupakan nama seorang tabib dari Korea, sedangkan Cha dalam bahasa China artinya teh. Tabib Kombu inilah yang pernah membuktikan bahwa teh jamur dapat menyembuhkan penyakit Kaisar pada waktu itu, sehingga Kaisar menamakan teh jamur itu kombucha. (Naland, 2004).

Teh kombucha ini bukanlah merupakan teh murni, melainkan teh yang ditumbuhi kultur simbiotik antara khamir dan bakteri yang selanjutnya disebut sebagai SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Kultur simbiotik inilah yang nantinya akan melakukan proses fermentasi dari larutan teh manis. Selama proses fermentasi, kultur tersebut akan mengubah gula menjadi alkohol dan beberapa asam organik, vitamin, dan zat antibiotik. Asam – asam organik yang dihasilkan sangat beragam, antara lain asam asetat, asam laktat, asam malat, asam oksalat, asam karbonat, asam glukonat, asam butirat, asam folat, dan asam glukoronat. Vitamin A, vitamin B kompleks, dan vitamin C juga merupakan hasil perombakan kultur simbiotik selama proses fermentasi. Kandungan gizinya yang baik bagi tubuh membuat minuman ini begitu diminati masyarakat sampai



sekarang, tidak hanya sebagai minuman konvensional, namun juga sebagai minuman fungsional (Greenwalt *et al.*, 2006).

Pada awalnya, kombucha dibuat dengan menggunakan larutan teh manis dan kultur simbiotik, namun seiring berjalannya waktu banyak yang membuat kombucha dari beberapa sari buah. Pembuatan kombucha dimulai dengan pembuatan larutan teh yang kemudian diberi gula dan disaring ke dalam wadah. Jika larutan teh manis telah mengalami penurunan suhu, kultur kombucha dimasukkan ke dalamnya. Setelah itu wadah ditutup dengan menggunakan kain katun agar pertukaran udara di dalamnya lancar. Proses fermentasi berlangsung selama 10 – 14 hari pada suhu kurang lebih 25°C. Pada suhu yang lebih rendah fermentasi dapat berlangsung lebih lama dan pada suhu yang lebih tinggi fermentasi berlangsung lebih cepat (Nainggolan, 2009). Menurut Sucipto (2000), kombucha yang dihasilkan memiliki pH $\pm 3 - 5,5$ dan mengandung alkohol sebesar $\pm 0,5 - 1\%$. Kandungan alkohol ini termasuk dalam kategori halal mengacu pada fatwa LP-POM MUI yang membatasi pangan halal pada tingkat alkohol 2%.

2.5 Kandungan Kimia Kombucha

Kombucha memiliki kandungan asam – asam organik yang tinggi dan beragam. Komponen lain yang dihasilkan dipengaruhi oleh banyak faktor yaitu kandungan kultur simbiotik, suhu, lama fermentasi, jenis gula, karakteristik air yang digunakan, dan jenis teh. Membuat kombucha dari teh hitam atau teh hijau akan memiliki perbedaan kandungan asam organik pula. Berikut ini adalah perbandingan kandungan asam organik kombucha pada teh hijau dan teh hitam :

Tabel 2.2 Kandungan Asam Organik Kombucha (ppm) pada Teh Hijau dan Teh Hitam

Komponen	Teh Hijau	Teh Hitam
Glukonat	1,02	0,82
Glukoronat	5,61	5,27
Oksalat	8,61	7,13
Tartarat	0,20	0,18
Malat	0,10	0,09
Asetat	2,60	2,40
Tanat	4,90	2,11
Fenolat	4,67	3,15
Folat	0,10	0,05
Vanilat	0,02	0,01

Sumber : Rofiq (2003)



Kombucha dinyatakan tidak mengandung Aseton, Piridin, atau logam – logam berbahaya seperti timbal (Pb), arsen (As), atau sianida (Cn). Selain asam – asam organik yang telah disebutkan pada tabel, kombucha juga menghasilkan vitamin B1, B2, B3, B6, dan B12, serta vitamin C. Beberapa enzim dan antibiotik juga terkandung dalam minuman kombucha (Bhattacharya *et al.*, 2013).

2.6 Kultur Simbiotik Kombucha

Untuk menjadi minuman kombucha, teh manis harus melewati suatu proses fermentasi yang diinisiasi oleh starter kombucha. Starter ini merupakan kultur simbiotik dari bakteri dan khamir. Adapun mikrobia yang menyusunnya dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 2.3 Peran Bakteri dan Khamir pada Proses Fermentasi Kombucha

Mikroorganisme	Spesies	Peran
<i>Acetobacter</i>	<i>Acetobacter xylinum</i>	Memproduksi asam asetat dan asam glukonat, serta membentuk nata pada kombucha
	<i>Acetobacter xylinoides</i>	
	<i>Acetobacter ketogenum</i>	
<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces ludwigii</i>	Memproduksi alkohol dan pemberi efek karbonasi pada kombucha
	<i>Saccharomyces apiculatus</i>	
	<i>Saccharomyces cereviceae</i>	
	<i>Saccharomyces pombe</i>	
	<i>Zygoaccharomyces kombuhae</i>	
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i> spp	Memproduksi alkohol atau asam asetat
	(tidak selalu ada)	
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus</i> spp	Memproduksi asam laktat
	(tidak selalu ada)	
<i>Gluconobacter</i>	<i>Gluconobacter kombucha</i>	Memproduksi asam asetat dan asam glukonat, serta membentuk nata pada kombucha
	(tidak selalu ada)	

Sumber : Helen (2013)

Selama proses fermentasi berlangsung, starter kombucha membentuk lapisan putih agak transparan yang tumbuh secara bertahap di atas permukaan larutan teh manis, memenuhi seluruh luasan permukaan membentuk sesuai wadah larutan, teksturnya kenyal, dan mengambang. Sifatnya gelatoid dan liat (Dewi, 2013). Menurut Suprpti (2003), banyak orang menyebutnya sebagai *nata de tea*, namun sekarang starter ini biasa disebut dengan SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Starter kombucha ini akan melakukan proses fermentasi dan oksidasi yang mengubah gula menjadi alkohol dan beberapa



asam organik seperti asam glukorat, asam glukoronat, asam asetat, asam laktat, serta vitamin B, vitamin C, asam amino, dan zat-zat antibiotik.



Gambar 2.6 Scoby Kombucha (Dokumentasi Pribadi)

Kultur kombucha terus mengalami pertumbuhan yang bertahap. Peremajaan yang baik akan membuat starter tumbuh dengan baik dan maksimal. Lapisan baru akan terbentuk setiap waktunya sampai beberapa waktu sehingga menghasilkan *scoby* yang tebal. Koloni pertama atau *baby scoby* biasanya hanya setebal 2 – 4 mm. Seiring dengan berjalannya waktu, *scoby* yang sudah tua, biasanya berumur sekitar 3 bulan akan menghasilkan lapisan yang lebih tebal yaitu sekitar 1 – 2 cm. Namun dalam kurun waktu yang lama ini, teh kombucha tidak dapat dikonsumsi secara langsung karena keasaman yang sangat tinggi. Teh kombucha ini telah menjadi cuka kombucha (Frank, 1995). Pada awalnya, *scoby* yang terbentuk akan berwarna kecoklatan. Namun semakin lama proses fermentasi, warnanya akan menjadi lebih terang. Hal ini terjadi karena adanya pendegradasian warna dari mikroba yang memanfaatkan *Total Soluble Solid* sebagai energi sehingga lama kelamaan pelarut dalam media akan habis dan cairan menjadi bening atau tidak berwarna (Nainggolan, 2009).

Dengan pH yang asam, kultur kombucha jarang ditumbuhi bakteri patogen atau kontaminan lain. Hanya saja, dalam pembuatannya perlu lebih

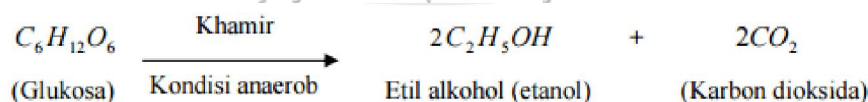


memperhatikan kebersihan di awal proses karena seringkali terjadi kontaminasi dari kapang. Terlalu lama dalam memberikan waktu tunggu pada teh manis yang masih panas di awal pembuatan juga menjadi faktor lain yang menyebabkan kontaminasi berupa kapang. Pengambilan *scooby* untuk proses peremajaan juga harus steril dengan menggunakan alkohol sehingga tidak terkontaminasi (Greenwalt *et al.*, 2006).

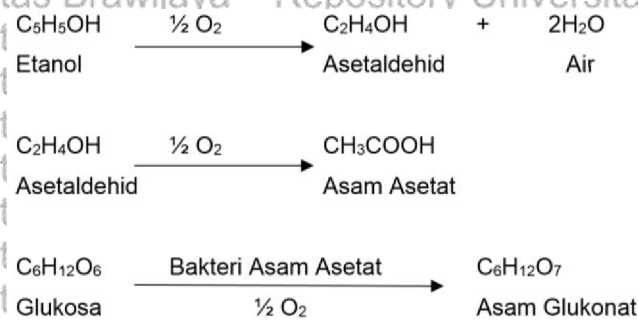
2.7 Proses Fermentasi Kombucha

Fermentasi yang terjadi pada teh kombucha terdiri dari 2 macam, yaitu fermentasi aerob dan anaerob. Pada fermentasi anaerob, glukosa akan diubah menjadi alkohol oleh khamir. Proses ini dinamakan dengan alkoholisasi. Setelah itu, alkohol akan diubah menjadi asam asetat oleh bakteri *Acetobacter* secara aerob. Pada pembuatan cuka proses ini terjadi secara terpisah, namun berbeda halnya dengan kombucha. Dengan menggunakan kultur simbiotik, maka proses ini dapat terjadi secara langsung dan spontan (Tjahyadi dan Marta, 2008).

Proses fermentasi diawali dengan pemecahan sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase yang dihasilkan khamir. Kemudian terjadi perombakan glukosa menjadi etanol dan CO_2 oleh khamir. CO_2 ini selanjutnya akan bereaksi dengan uap air dan membentuk asam karbonat. Etanol selanjutnya akan dioksidasi oleh bakteri menjadi asam asetat. *Acetobacter* adalah bakteri utama yang mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid kemudian menjadi asam asetat. Selain itu, glukosa juga dikonversi menjadi asam glukonat melalui jalur pentosa fosfat oleh bakteri. Sedangkan untuk fruktosa yang dihasilkan akan tetap berada di dalam larutan kombucha dan digunakan dalam jumlah sedikit untuk dimetabolisme menjadi asam asetat dan sejumlah kecil asam glukonat. Fruktosa yang masih tertinggal sebagian dalam media akan diubah menjadi bentuk yang lebih sederhana untuk dapat dimanfaatkan sebagai substrat fermentasi (Febrianti, 2014).



Gambar 2.7 Proses Perubahan Glukosa menjadi Alkohol dan Karbondioksida (Wood, 1998)



Gambar 2.8 Proses Oksidasi Etanol dan Perombakan Glukosa oleh Bakteri Asam Asetat(Prescott dan Dunn, 1959)

Semakin lama, pH kombucha akan semakin turun karena aktivitas bakteri dan khamir penghasil asam organik. Asam – asam organik yang dihasilkan tidak hanya asam asetat dan asam glukonat saja seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, namun ada asam – asam organik lain yang juga dihasilkan selama proses fermentasi (Chu dan Chen, 2006). Lama proses fermentasi juga mempengaruhi pertumbuhan *scoby*. Semakin lama prosesnya, pertumbuhan *scoby* akan semakin meningkat karena adanya proses pemecahan zat gula menjadi komponen yang lebih sederhana yaitu glukosa dan fruktosa yang dapat membentuk komponen ikatan karbon pembentuk selulosa oleh bakteri sebagai pembentuk nata pada kombucha. Dalam rentang waktu yang lama akan terjadi akumulasi hasil fermentasi yang terus – menerus sampai akhirnya mengalami penurunan. Penurunan ini terjadi karena adanya fermentasi etanol oleh khamir dan kadar gula dalam teh kombucha yang lama kelamaan habis karena digunakan oleh kultur simbiotik sebagai nutrisi bagi pertumbuhannya. Jika nutrisi telah habis, kultur kombucha tidak akan mati, namun dapat aktif kembali ketika mendapatkan nutrisi kembali (Jayabalan *et al.*, 2008).

2.8 Manfaat Kombucha bagi Tubuh

Pada dasarnya, banyak orang mengonsumsi kombucha karena kandungan antioksidannya yang tinggi sehingga dapat mencegah penyakit degeneratif. Padahal tidak hanya itu saja, kombucha memiliki manfaat kesehatan lain, terutama karena kandungan asam organiknya yang banyak dan beragam. Asam – asam organik yang mayoritas terkandung dalam kombucha ini memiliki fungsi yang lebih dominan dibandingkan dengan fungsi vitamin. Manfaat dari



komponen – komponen asam organik pada kombucha dapat dilihat melalui tabel berikut.

Tabel 2.4 Komponen Asam Organik yang Terkandung dalam Kombucha

Komponen	Manfaat
Asam Glukonat	Sebagai penginfeksi yeast seperti <i>Candida</i>
Asam Glukoronat	Mengonjugasi racun dan logam berat sehingga mudah dikeluarkan tubuh
Asam Oksalat	Pengawet alami
Asam Laktat	Bermanfaat bagi pencernaan dan sebagai senyawa antioksidan pencegah kanker
Asam Butirat	Melawan infeksi khamir
Asam Malat	Detoksifikasi tubuh
Asam Asetat	Menghambat pertumbuhan bakteri patogen
Asam Hyaluronik	Mengikat toksin dan membentuk ester
Asam Nukleat	Regenerasi sel
Asam Folat	Memproduksi sel – sel darah, menyembuhkan luka, membentuk otot, serta membantu pembelahan sel sehingga dapat mencegah kerusakan DNA
Asam Amino	Pembentukan protein untuk mengganti bagian sel-sel tubuh yang telah rusak

Sumber : Naland (2004)

Selain asam organik, kombucha juga kaya akan berbagai vitamin. Meskipun fungsinya tidak dominan, vitamin – vitamin ini tak kalah pentingnya bagi kesehatan manusia. Vitamin B1 misalnya, berperan dalam metabolisme karbohidrat untuk pembentukan energi dan koenzim. Vitamin B2 yang juga terkandung dalam kombucha berfungsi membentuk bagian sistem enzim yang penting bagi oksidasi glukosa dan pelepasan energi dalam sel – sel tubuh sehingga dapat mengatasi masalah berat badan. Vitamin B3 berfungsi untuk menurunkan kolesterol. Vitamin B6 juga terdapat dalam kombucha yang berfungsi sebagai bagian dari enzim yang berperan dalam sintesis protein. Sedangkan vitamin B12 yang juga terkandung dalam kombucha, memiliki beberapa peran penting seperti menjaga sel – sel berfungsi normal, terutama dalam saluran pencernaan, sistem saraf, dan sumsum tulang. Vitamin B15 berfungsi sebagai oksigenator dalam tubuh. Terakhir, vitamin C yang ada dalam kombucha berperan dalam pembentukan substansi antar sel dan berbagai jaringan, serta dapat meningkatkan daya tahan tubuh (Nalan, 2004).

Selain vitamin dan asam organik, kombucha juga diketahui mengandung asetaminophen yang berfungsi sebagai penghilang nyeri dalam tubuh dan antibiotik yang dapat membatasi pertumbuhan mikroba. Berkaitan dengan fungsi – fungsi yang telah disebutkan di atas, kombucha terbukti dapat mengobati



sembelit, memperbaiki kondisi tubuh, dapat mencegah arteriosklerosis, mengatasi stress, menurunkan tekanan darah, dan membunuh sel kanker. Konsumsi kombucha sebaiknya diberikan secara bertahap untuk terlebih dahulu melihat reaksi penerimaan tubuh (Greenwalt *et al.*, 2006).

2.9 Faktor Yang Berpengaruh Pada Pembuatan Kombucha

1. Sumber Nutrisi

Mikroba dalam kombucha membutuhkan nutrisi untuk tumbuh dan berkembang biak. Nutrisi tersebut didapatkan dari makanan yang tersedia dalam larutan. Bakteri maupun kapang membutuhkan senyawa karbon sebagai makanannya. Nah, disinilah peranan gula sangat diperlukan. Gula yang mengandung banyak karbon akan menjadi sumber makanan yang akan diubah menjadi energi oleh mikroba dan digunakan untuk bermetabolisme. Kurangnya sumber makanan akan menghambat pertumbuhan dan eksistensi mikroba dalam kombucha. Maka sangat perlu untuk diperhatikan ketersediaannya.

2. Suhu Fermentasi

Suhu juga merupakan faktor yang penting dalam keberhasilan pembuatan kombucha. Suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dengan dua cara yang berlawanan. Jika suhu mengalami kenaikan dari suhu optimalnya, maka kecepatan metabolisme akan naik dan pertumbuhannya juga akan mengalami percepatan. Sedangkan apabila suhu turun dari suhu optimalnya, kecepatan metabolisme akan menurun dan pertumbuhannya juga akan melambat. Maka perlu adanya pemilihan suhu yang tepat dalam pembuatan kombucha agar proses fermentasi yang terjadi berjalan secara optimal. Biasanya suhu yang digunakan sekitar 25°C dimana enzim yang dihasilkan mikroba akan bekerja secara maksimal.

3. Nilai pH

Setiap mikroorganisme memiliki kisaran pH lingkungan yang berbeda – beda untuk dapat tumbuh dan berkembang biak. Pada umumnya, pH awal pembuatan kombucha adalah 2,7 – 4. Pada pH ini, mikroba pembusuk atau patogen tidak dapat tumbuh sehingga proses fermentasi dapat berjalan dengan baik dan hasilnya tidak membahayakan konsumen. Pada pH ini pula, kapang juga tidak dapat tumbuh dan mencemari *scoby*.



4. Ketersediaan Oksigen

Masing – masing mikroba membutuhkan oksigen dalam jumlah yang berbeda – beda sesuai dengan metabolismenya. Dalam pembuatan kombucha, terjadi dua proses fermentasi, yaitu aerob dan anaerob. Mikroba yang berperan pada fermentasi aerob tentunya sangat membutuhkan oksigen. Sedangkan mikroba yang berperan pada fermentasi anaerob tidak memerlukan oksigen. Oleh karena itu, biasanya pada pembuatan kombucha, wadah fermentasi tidak ditutup rapat, melainkan ditutup dengan kain yang berserat rapat untuk memudahkan pertukaran udara di permukaan wadah bagi mikroba aerob tanpa memberikan kesempatan serangga untuk masuk ke dalamnya. Biasanya, proses fermentasi anaerob terjadi di bagian dasar kombucha karena tak memerlukan oksigen seperti khamir di permukaan larutan.

5. Waktu

Waktu pembelahan masing – masing sel berbeda – beda untuk setiap jenis mikroba, tergantung kondisi lingkungannya juga. Umumnya, bakteri lebih cepat membelah dari khamir, sedangkan khamir lebih cepat membelah daripada kapang. Waktu pembuatan kombucha, khususnya pada proses fermentasinya, sangat mempengaruhi hasil akhir kombucha. Waktu yang paling optimal untuk mendapatkan kombucha yang baik, segar, dan memiliki rasa yang enak adalah 10 – 14 hari. Dalam rentan waktu tersebut, gula sudah mulai habis dan tergantikan dengan asam – asam organik sehingga dapat dinikmati manfaatnya. Waktu tunggu ketika teh masih panas juga harus diperhatikan dengan baik. Jika terlalu lama, maka teh akan basi sebelum dapat diproses oleh starter kultur kombucha. Namun jika terlalu cepat, maka kultur tidak dapat tumbuh malah mati karena suhu yang terlalu tinggi.

2.10 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang orbit terluarnya mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Sifat radikal bebas sangat reaktif dan sangat labil. Radikal bebas ini jika keberadaanya terlalu berlebihan dapat menyerang senyawa apa saja disekitarnya yang cukup rentan seperti lipid dan protein yang berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif. Sifat radikal bebas yang labil dan reaktif ini dikarenakan sifatnya yang ingin menjadi stabil dengan mencari pasangan elektron dengan cara merebut elektron dari molekul lain. Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab



kerusakan DNA. Apabila tidak terlalu parah, masih bisa diperbaiki lagi oleh sistem perbaikan DNA. Namun jika sampai memutuskan rantai DNA, maka hal ini tidak dapat diperbaiki lagi dan akan mengganggu pembelahan sel. Beberapa perubahan abnormal pada gen tertentu bahkan terjadi dan dapat menimbulkan penyakit kanker. Efek merusak tersebut akibat dari proses pembentukan peroksida dari asam lemak. Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang memberikan pasokan radikal bebas secara terus – menerus yang menginisiasi peroksidasi lebih lanjut. Menurut Usuh, *et al.* (2005), prosesnya secara keseluruhan dapat digambarkan sebagai berikut :



Karena prekursor molekuler dari proses inisiasi adalah produk hidrosiperoksida (ROOH), peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang sangat berpotensi memiliki efek menghancurkan. Untuk mengontrol dan mengurangi peroksidasi lipid, digunakan senyawa yang bersifat antioksidan.

2.11 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkannya. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektronnya dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Rajalakshmi dan Narisimhan (1996) menggolongkan antioksidan menjadi tiga tipe yaitu :

1. Antioksidan primer

Senyawa yang tergolong sebagai antioksidan primer mampu memutuskan rantai pembentukan radikal bebas dengan memberikan elektron pada radikal bebas sehingga menjadi stabil. Senyawa yang tergolong antioksidan primer ini antara lain, senyawa polifenol, asam askorbat (vitamin C), asam galat, BHT, BHA, TBHQ, dan tokoferol.



2. Antioksidan sekunder

Senyawa pada golongan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas dengan menginaktifkan singlet oksigen, menyerap radiasi ultraviolet, dan bekerja sinergis dengan antioksidan primer. Senyawa yang termasuk di dalamnya adalah asam tiidipropionat, dilauril, dan distearil ester.

3. *Chelator sequestrants*

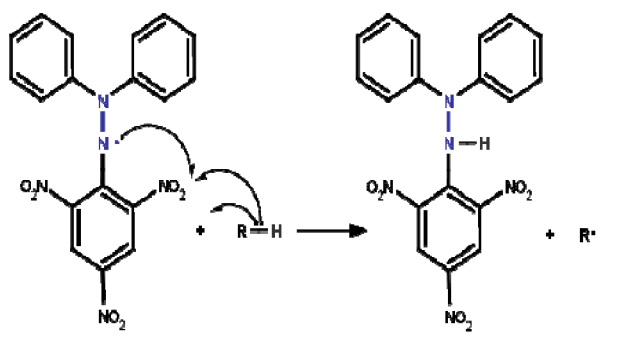
Senyawa yang digolongkan sebagai *chelator* ini berfungsi sebagai pengikat logam – logam yang dapat mengkatalis reaksi oksidasi lemak seperti Fe dan Cu. Hal ini dapat meningkatkan efisiensi reaksi antioksidan, menghambat oksidasi asam askorbat dan vitamin – vitamin larut lemak. Senyawa tersebut antara lain, asam sitrat, asam suksinat, asam oksalat, asam laktat, asam malat, asam tartarat, asam polifosfat, EDTA, asam amino, dan peptida. Dari semua asam tersebut, asam sitrat dari golongan asam karboksilatlah yang memiliki sifat antioksidan paling efektif dan juga memiliki sifat sebagai radioprotektor.

Sumber – sumber antioksidan dapat dikelompokkan pula menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Sedangkan antioksidan alami didapatkan dari hasil ekstraksi bahan alami. Contoh antioksidan sintetis yang banyak digunakan pada makanan adalah BHA, BHT, dan TBHQ. Untuk antioksidan alami, dapat diperoleh dari beberapa bagian tanaman berupa vitamin C dan E, beta karoten, pigmen seperti antosianin dan klorofil, flavonoid, dan polifenol. Beberapa antioksidan juga sudah ada di dalam tubuh manusia yang dikenal dengan enzim antioksidan yaitu SOD, GPx, dan CAT (Siswono, 2005 ; Ardiansyah, 2007).

2.12 Metode Analisa Aktivitas Antioksidan Dengan DPPH

Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai model penelitian antioksidan adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Metode dengan menggunakan DPPH termasuk metode yang mudah, cepat, dan murah. DPPH adalah molekul dengan senyawa radikal bebas yang stabil. Keberadaan antioksidan dalam sampel dapat menyumbangkan elektron kepada DPPH dan menghasilkan warna kuning. Radikal DPPH memiliki absorbansi yang kuat pada

panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu. Perubahan ini akan diukur dengan spektrofotometri dan diplotkan pada konsentrasi (Vaya dan Aviram, 2001).



Gambar 2.9 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Reynertson, 2007)

Berdasarkan reaksi di atas, nilai absorbansi yang terukur nantinya akan mengalami penurunan dibandingkan dengan blanko karena adanya reduksi oleh senyawa antioksidan yang bereaksi dengan radikal dalam mekanisme pemutusan rantai autooksidasi. Larutan DPPH yang awalnya berwarna ungu akan mengalami reduksi sehingga tidak memiliki absorpsi maksimum pada panjang gelombang sinar tampak. Maka, semakin kuat kapasitas antioksidan yang diuji, semakin pudar warna ungu yang dihasilkan. Biasanya warna yang terbentuk adalah kuning atau bening (Prangdimurti, 2009).



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan serta Laboratorium Pengolahan dan Rekayasa Proses Pangan dan Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan mulai Februari 2017 hingga Juni 2017.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada proses pembuatan kombucha dari salak Suwaru adalah timbangan digital (Mettler Denver AA 200), termometer, gelas ukur, *beakerglass* 500 ml, pipet ukur, blender, spatula, corong, kompor listrik, pengaduk, toples kaca, kain katun putih, kain saring, karet gelang dan sarung tangan. Alat yang digunakan untuk analisa produk kombucha adalah spektrofotometer (Unico, UV-2100 *Spectrophotometer*), timbangan digital (Mettler Denver AA 200), *color reader* (Minolta CR-10), pH meter (CG 824 SHCOTT), kompor listrik (Maspion 5-300, 220 volt), buret dan statif, vortex, labu ukur 100 ml, labu ukur 50 ml, labu ukur 10 ml, erlenmeyer 250 ml, tabung reaksi, *beaker glass*, pipet ukur, pipet tetes, dan kertas saring.

3.2.2 Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah salak yang didapatkan dari Desa Suwaru, Kecamatan Gondanglegi, Kabupaten Malang. Sedangkan untuk kontrol, bahan baku yang digunakan adalah teh hitam merek "Goalpara". Bahan untuk pembuatan kombucha dari salak Suwaru yaitu gula pasir merek "Gulaku", starter kombucha yang dibeli dari Indokombucha Bandung, dan air. Bahan yang digunakan untuk analisa adalah sukrosa, akuades, asam oksalat, indikator PP, NaOH 0,1 N, DPPH 0,2 mM dalam etanol, etanol 96%, H₂SO₄, anthrone, Na₂CO₃, reagen Folin ciocalteau, buffer pH 4,0, buffer pH 7,0, aluminium foil, plastik, alkohol 70%, yang didapatkan dari Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Toko Kridatama, dan Toko Kimia Amani Malang.



3.3 Metode Penelitian

Metodologi penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan menggunakan 2 faktor yaitu penambahan gula dan penambahan kultur. Faktor penambahan gula terdiri atas 2 variasi yaitu 7,5%, dan 10%. Faktor penambahan kultur terdiri atas 3 variasi yaitu 5%, 7,5%, dan 10%. Sehingga diperoleh 6 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan dan diperoleh 18 satuan percobaan. Kontrol yang digunakan berupa kombucha teh.

Faktor I : Penambahan gula (G)

G1 = 7,5% (b/v)

G2 = 10% (b/v)

Faktor II : Penambahan Kultur (K)

K1 = 5% (v/v)

K2 = 7,5% (v/v)

K3 = 10% (v/v)

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Dua Faktor

Perlakuan	K1	K2	K3
G1	G1K1	G1K2	G1K3
G2	G2K1	G2K2	G2K3

Dari kedua faktor tersebut diperoleh 6 kombinasi perlakuan sebagai berikut:

G1K1 = Penambahan gula 7,5% (b/v), penambahan kultur 5% (v/v)

G1K2 = Penambahan gula 7,5% (b/v), penambahan kultur 7,5% (v/v)

G1K3 = Penambahan gula 7,5% (b/v), penambahan kultur 10% (v/v)

G2K1 = Penambahan gula 10% (b/v), penambahan kultur 5% (v/v)

G2K2 = Penambahan gula 10% (b/v), penambahan kultur 7,5% (v/v)

G2K3 = Penambahan gula 10% (b/v), penambahan kultur 10% (v/v)

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Tahapan pembuatan kombucha dari salak Suwaru adalah sebagai berikut (modifikasi Zubaidah dan Dewantari, 2016) :

1. Salak Suwaru dikupas kulitnya dan dikeluarkan bijinya.
2. Bahan ditimbang sebanyak 400 gram, kemudian dicuci bersih.



3. Bahan dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil dan ditambah air dengan perbandingan buah salak dan air adalah 1:1. Kemudian diblender selama 2,5 detik
4. Bubur buah salak disaring dengan menggunakan kain saring untuk memisahkan ampas salak dengan cairannya, dimana ampas nya dibuang sedangkan cairannya digunakan untuk tahap proses selanjutnya, sehingga didapatkan sari salak Suwaru.
5. Sari salak Suwaru dipasteurisasi hingga mencapai suhu 65°C selama 30 menit
6. Ditambahkan gula sesuai dengan perlakuan (7,5%, dan 10%) ke dalam seduhan salak Suwaru dan diaduk agar gula tersebut larut.
7. Sari salak Suwaru didinginkan pada suhu $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Pendinginan dilakukan untuk memberikan suhu yang tepat bagi starter kombucha sehingga dapat tumbuh dan melakukan fermentasi. Kemudian seduhan salak Suwaru dimasukkan ke dalam toples kaca
8. Starter kombucha cair ditambahkan sesuai perlakuan (5%, 7,5%, dan 10%) ke dalam sari salak Suwaru yang sudah dingin
9. Toples ditutup dengan kain katun agar terhindar dari kotoran dan debu, serta serangga. Kemudian diikat dengan karet gelang.
10. Fermentasi dilakukan selama 14 hari pada suhu ruang. Selama fermentasi kombucha tidak boleh digoyang – goyang dan dijauhkan dari panas langsung
11. Setelah fermentasi selesai, kombucha yang dihasilkan disaring dan siap untuk dikonsumsi. Tujuan penyaringan adalah memisahkan cairan dengan nata yang terbentuk selama fermentasi.
12. Teh hitam digunakan sebagai kontrol dalam penelitian ini. Proses pembuatan kombucha dari teh hitam sama dengan pembuatan kombucha dari salak Suwaru hanya saja teh hitam dapat langsung diseduh dan diambil cairannya.



3.5 Pengamatan dan Analisa Data

3.5.1 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan pada kombucha dari salak Suwaru meliputi:

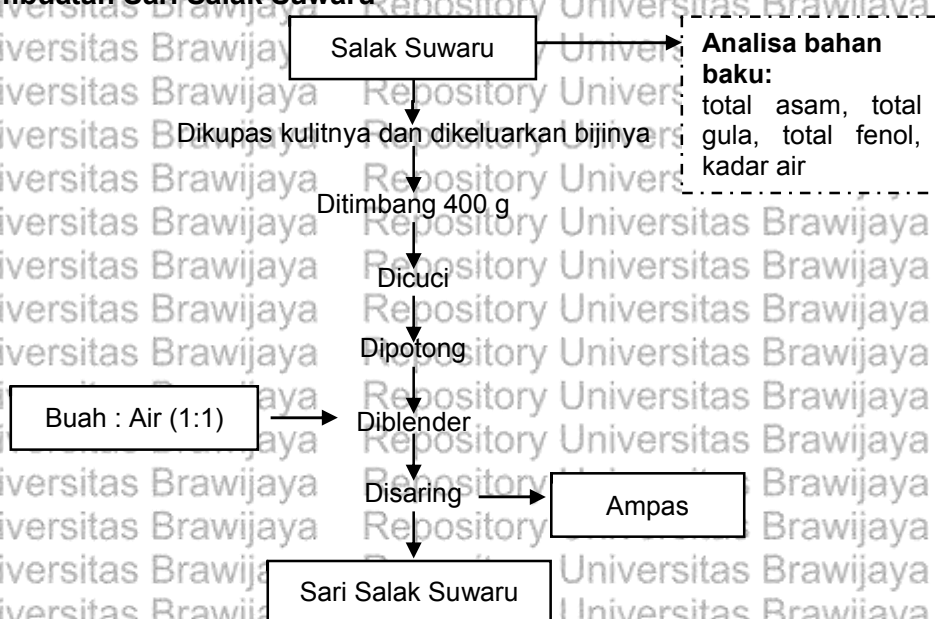
1. Analisa total asam (Apriyantono dkk., 1989)
2. Analisa total bakteri dan khamir (Fardiaz, 1987)
3. Analisa pH (Apriyantono dkk., 1989)
4. Analisa total fenol (Prangdimurti, 2009)
5. Analisa total gula (Apriyantono dkk., 1989)
6. Analisa aktivitas antioksidan dalam nilai IC₅₀ (Prangdimurti, 2009)
7. Analisa warna (Yuwono dan Susanto, 1998)
8. Uji organoleptik (Rahayu, 2001)

3.5.2 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisa ragam menggunakan ANOVA dengan selang kepercayaan 5% kemudian dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) apabila beda nyata dan jika terdapat interaksi antara kedua faktor maka dilanjutkan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode Zeleny.

3.6 Diagram Alir

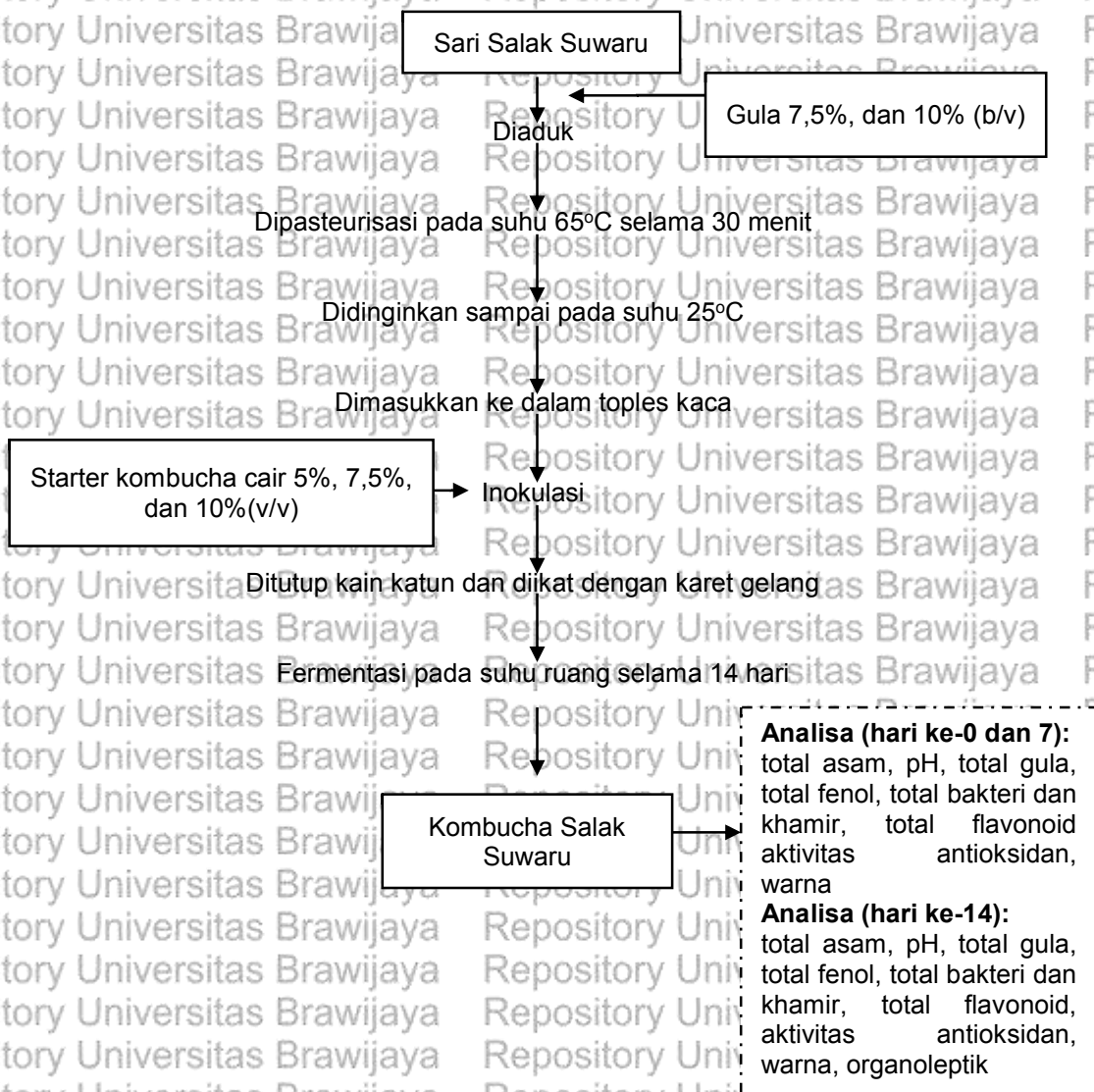
3.6.1 Pembuatan Sari Salak Suwaru



Gambar 3.1 Diagram Alir Proses Pembuatan Sari Salak Suwaru

(Modifikasi Zubaidah dan Dewantari, 2016)

3.6.2 Pembuatan Sari Salak Suwaru



Gambar 3.2 Diagram Alir Proses Pembuatan Kombucha Dari Salak Suwaru

(Modifikasi Zubaidan dan Dewantari, 2016)

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan pada pembuatan kombucha yaitu salak Suwaru yang didapatkan dari Desa Suwaru, Kecamatan Gondanglegi, Kabupaten Malang. Buah yang digunakan pada penelitian ini dibeli di petani salak Suwaru secara langsung. Pembelian buah salak Suwaru dilakukan setiap akan melakukan ulangan pada hari pelaksanaan penelitian. Perlakuan ini dapat memberikan jaminan keseragaman bahan baku baik pada tingkat kematangan maupun sifat varietas akibat pengaruh lingkungan penanaman seperti jenis dan kemiringan tanah, kelembapan udara, suhu, dan faktor pendukung lainnya. Setiap varietas buah salak memiliki kandungan kimia yang berbeda – beda. Oleh karena itu perlu dilakukan analisa bahan baku sebelum melakukan proses fermentasi untuk mengetahui karakteristik bahan baku salak yang digunakan. Analisa bahan baku meliputi total asam, total gula, total fenol, dan kadar air. Hasil analisa kandungan kimia salak Suwaru dibandingkan dengan salak Pondoh sebagai referensi ditunjukkan pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Hasil Analisa Kandungan Kimia Buah Salak Suwaru Dibandingkan dengan Salak Pondoh

Parameter	Salak Suwaru	Salak Pondoh*
Total Asam (%)	1,58 ± 0,015	1,84
Total Gula (%)	8,75 ± 0,031	7,74
Total Fenol (mg/L)	643,33 ± 2,464	460,00
Kadar Air (%)	81,64 ± 0,342	81,16

Keterangan : *Hidayati (2013)

Hasil analisa menunjukkan bahwa total asam salak Suwaru lebih rendah jika dibandingkan dengan salak Pondoh, yaitu 1,58%. Total asam pada buah salak dipengaruhi oleh kandungan asam organik di dalamnya. Asam asetat merupakan asam organik yang jumlahnya paling banyak terdapat dalam buah salak. Menurut Garman dan Sherrington (2009), asam organik pada buah – buahan merupakan jenis asam lemah. Kadar total asam dapat menjadi indikator aktivitas antioksidan pada buah. Semakin tinggi total asam, semakin tinggi pula aktivitas antioksidan dalam buah.



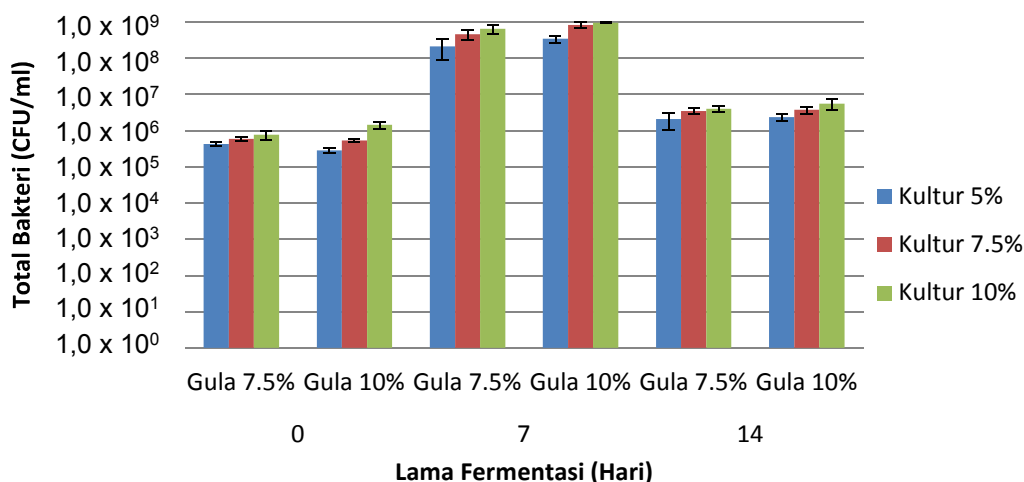
Berdasarkan hasil analisa, total gula pada salak Suwaru lebih tinggi dibandingkan dengan salak pondoh, yaitu sebesar 8,75%. Menurut Hartanto dkk. (2000), kandungan gula terbanyak yang ada dalam buah salak pada kondisi segar adalah sukrosa, kemudian diikuti glukosa dan fruktosa. Kadar gula yang tinggi pada buah salak menyebabkan buah salak lebih rentan terhadap mikroba pembusuk. Selain itu, kadar air yang tinggi juga dapat mendukung pertumbuhan mikroba pembusuk jika buah salak disimpan dalam jangka waktu yang lama. Berdasarkan analisa, salak Suwaru dan salak Pondoh memiliki kadar air yang hampir sama yaitu sebesar 81%.

Hasil analisa menunjukkan bahwa total fenol salak Suwaru lebih tinggi dari salak Pondoh. Total fenol pada salak Suwaru sebesar 643,3 mg/L sedangkan pada salak Pondoh sebesar 460 mg/L. Senyawa fenolik dalam buah dapat menjadi agen antioksidan alami yang dapat menangkal radikal bebas. Senyawa fenolik yang paling banyak terdapat dalam buah salak yaitu flavonoid dan tanin. Keberadaan kedua senyawa fenolik ini menyebabkan tingginya aktivitas antioksidan dalam buah salak, bahkan lebih tinggi dari buah tropis lainnya seperti manggis, alpukat, jeruk, pepaya, mangga, kiwi, lemon, nanas, apel, rambutan, pisang, melon, dan semangka (Aralas dkk, 2009).

4.2 Hasil Analisa Karakteristik Kombucha Salak Suwaru

4.2.1 Total Bakteri

Rerata total bakteri kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur selama fermentasi berkisar antara $2,8 \times 10^5$ CFU/mL sampai $1,4 \times 10^6$ CFU/mL pada hari ke 0, lalu pada hari ke-7 berkisar antara $2,1 \times 10^8$ CFU/mL sampai $9,4 \times 10^8$ CFU/mL, dan pada hari ke-14 berkisar antara $2,1 \times 10^8$ CFU/mL hingga $5,5 \times 10^8$ CFU/mL. Perubahan total bakteri pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Gambar 4.1**.



Gambar 4.1 Perubahan Total Bakteri pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, total bakteri pada kombucha salak Suwaru cenderung semakin meningkat, khususnya pada hari ke-7. Namun pada hari ke-14 total bakteri akan mengalami penurunan. Sedangkan semakin tinggi konsentrasi penambahan gula dan kultur, total bakteri cenderung semakin meningkat pula. Total bakteri tertinggi terjadi di hari ke-7 pada kombucha dengan variasi penambahan gula dan kultur masing – masing sebesar 10%. Rerata total bakteri kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur selama fermentasi dapat dilihat pada **Tabel 4.2**

Tabel 4.2 Rerata Total Bakteri Kombucha Salak Suwaru Dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula Dan Kultur Selama Fermentasi

Konsentrasi		Total Bakteri (CFU/mL)			
Gula (%)	Kultur (%)	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Peningkatan
7,5	5	$4,2 \times 10^5$	$2,1 \times 10^8$	$2,1 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$
	7,5	$5,8 \times 10^5$	$4,5 \times 10^8$	$3,4 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$
	10	$7,6 \times 10^5$	$6,4 \times 10^8$	$3,9 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$
10	5	$2,8 \times 10^5$	$3,4 \times 10^8$	$2,3 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
	7,5	$5,3 \times 10^5$	$8,2 \times 10^8$	$3,7 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$
	10	$1,4 \times 10^6$	$9,4 \times 10^8$	$5,5 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$



Berdasarkan **Tabel 4.2**, dapat diketahui bahwa total bakteri pada hari ke-7 mengalami peningkatan, namun pada hari ke-14 mengalami penurunan. Kenaikan total bakteri diduga terjadi karena bakteri melakukan metabolisme dengan memanfaatkan gula yang ditambahkan ke dalam medium sebagai sumber nutrisi. Tidak hanya dari gula yang ditambahkan, bakteri juga mendapatkan nutrisi dari zat – zat yang terkandung dalam buah salak diantaranya, padatan terlarut berupa glukosa, asam amino, dan vitamin. Melalui proses fermentasi glukosa akan dirombak menjadi asam – asam organik dan energi. Energi hasil fermentasi akan mendukung terjadinya sintesis sel sehingga total bakteri meningkat. Menurut Yang *et al.* (2006), selama fermentasi bakteri akan memanfaatkan zat – zat yang terkandung dalam medium sebagai sumber nutrisi dan menghasilkan energi atau ATP yang berguna bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. Pertumbuhan merupakan peningkatan komponen – komponen sel yang akan menyebabkan peningkatan ukuran sel, peningkatan jumlah sel, atau keduanya yang berpengaruh pada total bakteri dalam kombucha (Amerine dan Kunkee, 2005). Penurunan total bakteri diduga terjadi karena bakteri kekurangan sumber nutrisi sehingga laju pertumbuhannya menurun, sedangkan laju kematiannya meningkat. Adanya zat – zat inhibitor hasil metabolisme bakteri juga menjadi salah satu faktor terjadinya penurunan total bakteri dalam kombucha. Menurut Volk dan Wheeler (2003), seiring dengan bertambahnya waktu, laju pertumbuhan bakteri akan menurun secara perlahan karena berkurangnya kadar gula dan timbulnya asam organik serta alkohol sebagai metabolit fermentasi yang menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan **Tabel 4.2**, semakin tinggi konsentrasi kultur yang diberikan maka semakin tinggi pula total bakteri kombucha. Hal ini diduga karena kultur yang ditambahkan ke dalam kombucha dapat meningkatkan jumlah mikroba awal. Kultur kombucha menyediakan bakteri yang nantinya selama proses fermentasi berlangsung akan memanfaatkan glukosa menjadi energi untuk pembelahan sel sehingga terjadi peningkatan jumlah mikroba. Bakteri utama dalam kultur kombucha adalah *Acetobacter xylinum*. Selain itu ada bakteri lain yang juga membantu proses fermentasi kombucha antara lain, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, dan *Gluconobacter* (Helen, 2013).

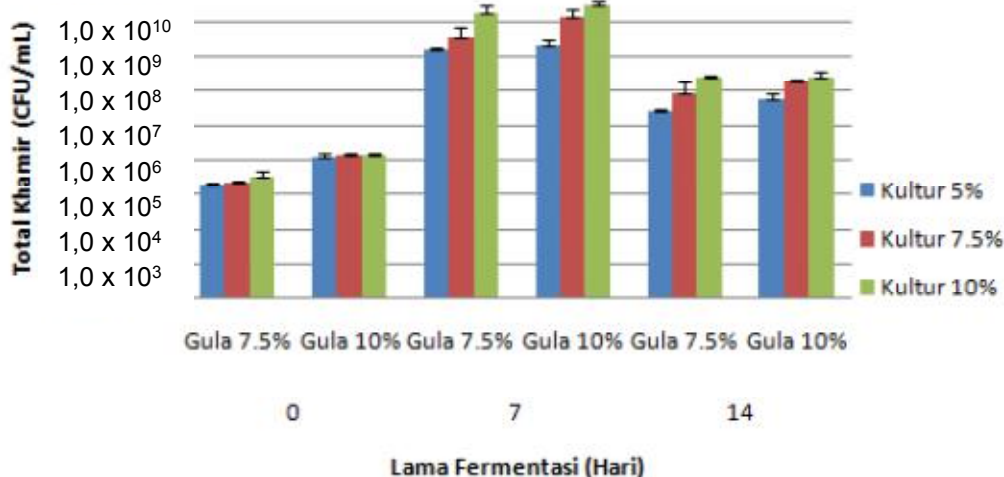
Semakin tinggi konsentrasi gula yang ditambahkan, semakin tinggi pula total bakteri yang dihasilkan. Pertumbuhan bakteri tergantung pada kandungan



gula dalam kombucha, baik yang ditambahkan maupun yang telah terkandung dalam salak. Kadar gula yang tepat dapat meningkatkan laju pertumbuhan bakteri dalam medium. Menurut Teng (2009), gula merupakan sumber glukosa yang berfungsi sebagai substrat untuk pertumbuhan sel dan pembentukan produk berupa asam asetat. Substrat digunakan oleh bakteri untuk tumbuh dan melakukan metabolisme. Oleh karena itu, total bakteri akan mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi gula yang ditambahkan.

4.2.2 Total Khamir

Hasil pengamatan menunjukkan rerata total khamir kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. Total khamir pada kombucha salak Suwaru pada hari ke-0 berkisar antara $8,4 \times 10^5$ CFU/mL sampai $5,2 \times 10^6$ CFU/mL, pada hari ke-7 berkisar antara $3,1 \times 10^9$ CFU/mL sampai $4,5 \times 10^{10}$ CFU/mL, dan pada hari ke-14 berkisar antara $7,8 \times 10^7$ CFU/mL sampai $6,1 \times 10^8$ CFU/mL. Grafik perubahan total khamir pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur selama proses fermentasi dapat dilihat pada **Gambar 4.2**.



Gambar 4.2 Perubahan Total Khamir pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.2** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, total khamir pada kombucha salak Suwaru cenderung semakin meningkat, namun mengalami penurunan pada hari ke-14. Seiring dengan penambahan gula dan kultur, total khamir yang dihasilkan juga mengalami peningkatan. Total

khamir tertinggi terjadi di hari ke-7 pada kombucha dengan variasi penambahan gula dan kultur masing – masing sebesar 10%. Rerata total khamir kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.3**.

Tabel 4.3 Rerata Total Khamir Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Konsentrasi Gula (%)	Konsentrasi Kultur (%)	Total Bakteri (CFU/mL)			
		Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Peningkatan
7,5	5	$8,4 \times 10^5$	$3,1 \times 10^9$	$7,8 \times 10^7$	$7,7 \times 10^7$
	7,5	$9,5 \times 10^5$	$6,6 \times 10^9$	$2,2 \times 10^8$	$2,2 \times 10^8$
	10	$1,4 \times 10^6$	$2,9 \times 10^{10}$	$5,8 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$
10	5	$4,9 \times 10^6$	$4,0 \times 10^9$	$1,6 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$
	7,5	$5,2 \times 10^6$	$2,2 \times 10^{10}$	$4,3 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$
	10	$5,2 \times 10^6$	$4,5 \times 10^{10}$	$6,1 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$

Berdasarkan **Tabel 4.3**, total khamir pada hari ke-7 mengalami peningkatan, namun pada hari ke-14 mengalami penurunan sama halnya dengan perubahan total bakteri. Menurut Dufresne dan Farnworth (2000), tren peningkatan sel khamir sama seperti tren peningkatan sel bakteri. Peningkatan total khamir diduga karena khamir melakukan metabolisme dengan memanfaatkan nutrisi dalam kombucha dan menghasilkan energi yang kemudian digunakan untuk melakukan pembelahan sel. Okoli *et al.* (2009) menyatakan bahwa sebagian gula akan dipakai khamir untuk memproduksi sel baru dan tumbuh, sedangkan sebagian lagi akan dirombak menjadi metabolit seperti asam organik dan alkohol. Rezaee (2005) juga mengungkapkan bahwa pada hari ke 2 – 6 mikroba banyak tumbuh dan membelah diri sehingga jumlahnya meningkat dengan cepat. Penurunan total khamir diduga karena nutrisi yang ada dalam kombucha telah berkurang karena dimanfaatkan khamir secara terus – menerus bersama dengan bakteri. Berkurangnya sumber nutrisi dalam kombucha menyebabkan khamir tidak dapat bermetabolisme untuk membentuk sel baru sehingga laju pertumbuhan khamir semakin menurun dan menyebabkan penurunan total khamir dalam kombucha. Selama fermentasi berlangsung, khamir akan menghasilkan metabolit seperti asam organik, alkohol, dan zat – zat lain yang bersifat antimikroba. Kondisi ini dapat menjadi pembatas pertumbuhan



khamir sehingga khamir tidak berkembang terus menerus, namun laju pertumbuhannya akan menurun seiring dengan habisnya sumber karbon dalam kombucha. Hal ini didukung oleh pernyataan Greenwalt *et al.* (2006) bahwa kandungan senyawa fenol dan asam – asam organik yang terbentuk dari proses fermentasi memiliki sifat antimikroba sehingga pertumbuhan mikroba terhambat dan mengalami penurunan laju pertumbuhan.

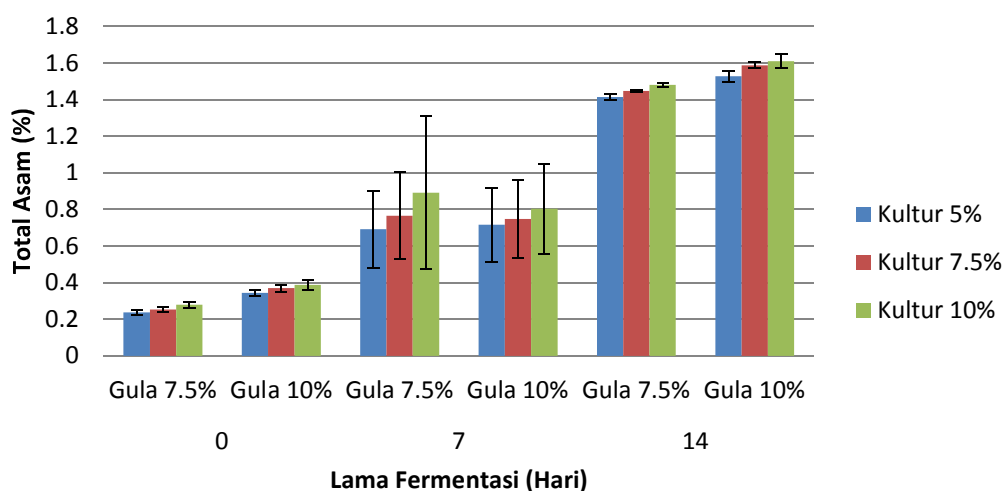
Hasil analisa menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kultur yang diberikan, semakin tinggi pula total khamir kombucha. Hal ini diduga karena di dalam kultur yang ditambahkan ke dalam kombucha terdapat mikroba berupa khamir dalam jumlah yang cukup besar sehingga dapat meningkatkan mikroba awal. Tingginya konsentrasi kultur akan menyebabkan peningkatan total khamir karena khamir akan melakukan metabolisme dengan memanfaatkan sumber nutrisi dalam kombucha untuk sintesis sel dan menghasilkan sel baru. Maka dari itu semakin tingginya konsentrasi kultur, total khamir akan cenderung meningkat. Adapun khamir yang terdapat dalam kombucha terdiri dari beberapa spesies yaitu *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces apiculatus*, *Saccharomyces cereviceae*, *Saccharomyces pombe*, dan *Zygoaccharomyces kombuhae*. (Greenwalt *et al.*, 2006).

Hasil analisa juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi gula yang ditambahkan, semakin tinggi total khamir yang dihasilkan. Glukosa adalah sumber nutrisi bagi pertumbuhan dan perkembanganbiakan khamir. Oleh karena itu semakin banyak gula yang ditambahkan maka perkembangan khamir akan semakin pesat. Hal ini didukung oleh pernyataan Sreeramulu (2000), pada saat dimulainya proses fermentasi, khamir akan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa yang kemudian dimanfaatkan untuk metabolisme dan menghasilkan energi yang kemudian digunakan untuk menghasilkan sel baru. Akibatnya total khamir akan mengalami peningkatan.

4.2.3 Total Asam

Hasil pengamatan menunjukkan rerata total asam kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. Total asam pada kombucha salak Suwaru berkisar antara 0,21% sampai 0,45% pada hari ke-0, 0,69% hingga 0,89% pada hari ke-7, dan 1,41% sampai 1,61% pada hari ke-14.

Perubahan total asam pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.3**.



Gambar 4.3 Grafik Perubahan Total Asam pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.3** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, total asam yang dihasilkan akan semakin meningkat. Semakin tinggi kultur dan gula yang ditambahkan, total asam yang dihasilkan juga akan cenderung meningkat. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kultur dan gula memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap peningkatan total asam kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi, namun tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. Total asam tertinggi terjadi di hari ke-14 pada kombucha dengan variasi penambahan gula dan kultur masing – masing sebesar 10%. Rerata total asam kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.4**.

Tabel 4.4 Rerata Total Asam Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi

Konsentrasi Kultur (%)	Total Asam (%)			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Peningkatan	
5	0,29	1,47	1,18(a)	0,02
7,5	0,31	1,52	1,21(b)	
10	0,33	1,55	1,22(b)	



Berdasarkan **Tabel 4.4**, peningkatan total asam tertinggi terdapat pada penambahan kultur 7,5% dan 10%. Hal ini diduga karena kultur yang ditambahkan ke dalam kombucha melakukan perombakan glukosa yang menghasilkan etanol dan asam – asam organik sehingga total asam meningkat. Semakin banyak kultur yang ditambahkan maka jumlah mikroba dalam kombucha yang melakukan proses fermentasi akan semakin bertambah. Hal tersebut akan mendukung peningkatan total asam dalam kombucha. Aktivitas bakteri dan khamir menghasilkan asam – asam organik sebagai produk seperti asam asetat, asam glukonat, dan asam glukoronat yang menyebabkan total asam meningkat (Watawana *et al.*, 2016).

Rerata total asam kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan gula selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.5**.

Tabel 4.5 Rerata Total Asam Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi

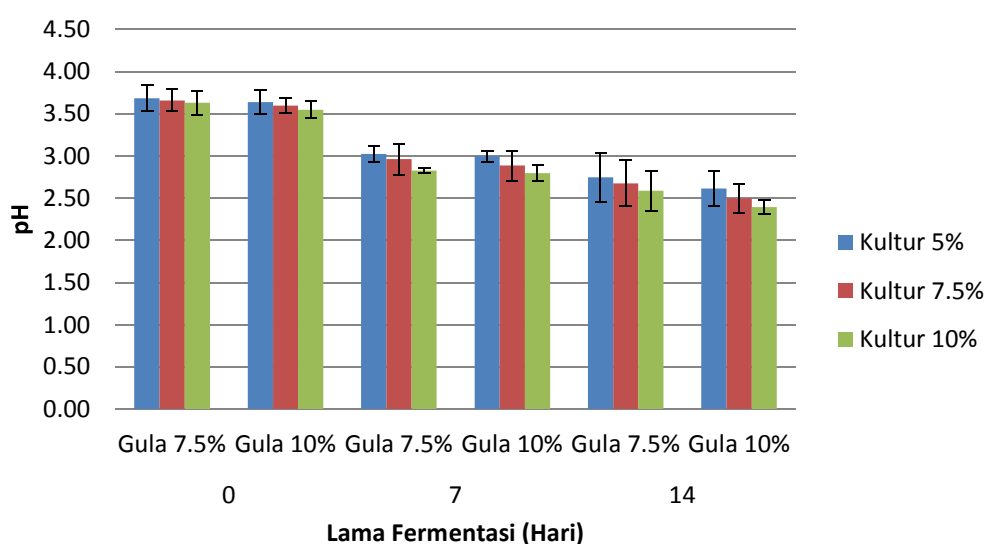
Konsentrasi Gula (%)	Total Asam (%)			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Peningkatan	
7,5	0,26	1,45	1,19(a)	0,02
10	0,37	1,57	1,20(b)	

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa peningkatan tertinggi terjadi pada penambahan gula sebesar 10%. Hal ini diduga terjadi karena gula yang ditambahkan ke dalam kombucha akan dimanfaatkan bakteri dan khamir sebagai sumber nutrisi dan menghasilkan energi serta metabolit berupa asam – asam organik. Asam – asam organik yang dihasilkan akan menyebabkan peningkatan total asam. Maka semakin tinggi konsentrasi gula yang ditambahkan, semakin tinggi pula total asam kombucha. Hambali *et al.* (2008) memaparkan bahwa secara teoritis diketahui bahwa semakin banyak jumlah gula pada sari buah yang akan difermentasi maka akan semakin tinggi total asam yang dihasilkan. Menurut Chu dan Chen (2006), total asam dalam kombucha dipengaruhi oleh banyaknya asam organik di dalamnya. Asam organik terbesar yang terkandung dalam kombucha adalah asam asetat. Asam asetat dihasilkan melalui oksidasi alkohol yang dilakukan oleh bakteri *Acetobacter* adalah bakteri utama yang mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid kemudian menjadi asam asetat. Selain

itu, asam glukonat juga dihasilkan dengan mengonversi glukosa melalui jalur pentosa fosfat oleh bakteri. Sedangkan untuk fruktosa yang dihasilkan dari perombakan sukrosa oleh khamir akan tetap berada di dalam kombucha dan digunakan dalam jumlah sedikit untuk dimetabolisme menjadi asam asetat dan sejumlah kecil asam glukonat. Fruktosa yang masih tertinggal sebagian dalam media akan diubah menjadi bentuk yang lebih sederhana untuk dapat dimanfaatkan sebagai substrat fermentasi (Chu dan Chen, 2006). Beberapa asam organik lain didapatkan selama proses fermentasi diantaranya asam glukoronat, asam laktat, asam malat, asam oksalat, dan asam tanat (Goh *et al.*, 2012).

4.2.4 pH

Hasil pengamatan menunjukkan rerata pH kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. pH pada kombucha salak Suwaru berkisar antara 3,55 sampai 3,68 pada hari ke-0, 2,8 hingga 3,03 pada hari ke-7, dan 2,4 sampai 2,75 pada hari ke-14. Perubahan pH pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.4**.



Gambar 4.4 Grafik Perubahan pH pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.4** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, pH kombucha salak Suwaru akan semakin menurun. Semakin tinggi kultur dan gula yang ditambahkan, pH yang dihasilkan juga akan mengalami penurunan.



Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kultur dan gula memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap penurunan pH kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi, namun tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. pH terendah terjadi di hari ke-14 pada kombucha dengan variasi penambahan kultur dan gula masing – masing sebesar 10%. Rerata pH kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.6**.

Tabel 4.6 Rerata pH Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi

Konsentrasi Kultur (%)	pH			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Penurunan	
5	3,66	2,68	0,98(a)	0,08
7,5	3,63	2,59	1,04(b)	
10	3,59	2,49	1,10(b)	

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa pada perlakuan penambahan konsentrasi kultur sebanyak 7,5% dan 10% terjadi penurunan pH tertinggi. Hal ini diduga karena selama proses fermentasi, bakteri dan khamir akan memproduksi asam – asam organik dan melepaskan ion – ion H^+ . Adanya pelepasan ion H^+ dapat menurunkan nilai pH dan menyebabkan suasana asam dalam medium fermentasi (Frank, 1995). Hal ini didukung oleh Naidu (2000) yang menyatakan bahwa asam – asam organik yang terlarut akan terdisosiasi untuk melepaskan proton – proton bebas sehingga semakin tinggi kadar asam – asam organik akan menyebabkan tingginya ion H^+ yang dapat menurunkan pH larutan. Kalel *et al.* (2012) menyatakan bahwa metabolit primer dalam fermentasi kombucha adalah asam asetat, asam glukonat, asam glukoronat, dan asam laktat. Terbentuknya asam – asam organik menyebabkan penurunan pH dalam kombucha.

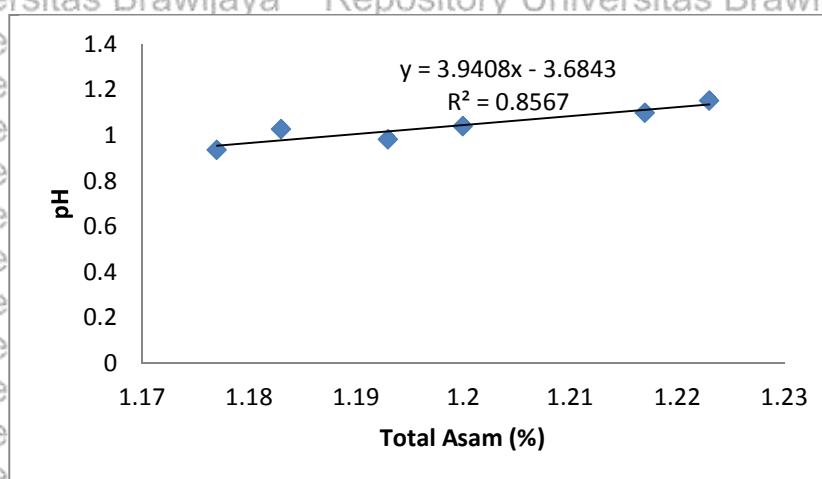
Rerata pH kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan gula selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.7**

Tabel 4.7 Rerata pH Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi

Konsentrasi Gula (%)	Ph		Penurunan	BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14		
7,5	3,66	2,67	0,99(a)	0,06
10	3,60	2,50	1,09(b)	

Berdasarkan **Tabel 4.7** menunjukkan bahwa penurunan pH tertinggi terjadi pada penambahan gula sebesar 10%. Hal ini diduga karena mikroba dalam kombucha memanfaatkan gula dalam medium sebagai nutrisi untuk menghasilkan energi dan asam – asam organik. Menurut Nainggolan (2009), selama fermentasi, gula akan dirombak oleh khamir menjadi glukosa dan fruktosa kemudian diubah menjadi gas CO₂ serta berbagai asam organik dan senyawa lain. Glukosa akan dimanfaatkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* bersama dengan khamir *Saccharomyces cereviceae* sebagai sumber energi dan dimetabolisme menjadi asam organik. Asam – asam organik terlarut akan melepaskan proton bebas sehingga menurunkan nilai pH. Menurut Junior *et al.* (2009), pada umumnya semakin meningkatnya total asam suatu bahan maka nilai pH semakin turun.

Penurunan pH disertai dengan peningkatan total asam. Korelasi antara penurunan pH dengan peningkatan total asam dapat dilihat pada **Gambar 4.5**.



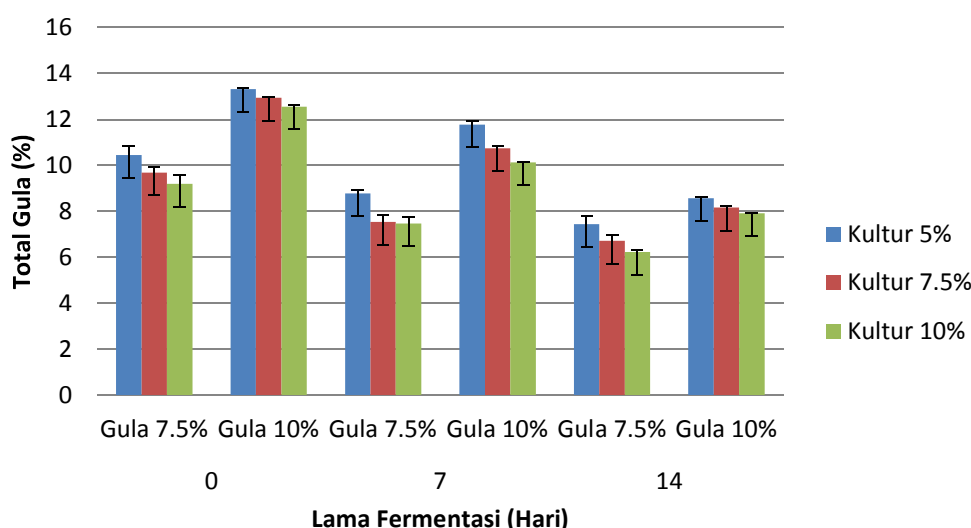
Gambar 4.5 Hubungan antara Penurunan pH dan Peningkatan Total Asam pada Perlakuan Penambahan Gula dan Kultur pada Kombucha Salak Suwaru



Hubungan regresi linear antara penurunan pH dengan peningkatan total asam menunjukkan adanya korelasi positif dengan persamaan $y = 3,940x - 3,684$ dan memiliki nilai determinasi sebesar 0,856. Nilai determinasi menunjukkan 85,6% pH dipengaruhi oleh total asam. Hal ini berarti bahwa nilai pH berbanding terbalik dengan nilai total asam.

4.2.5 Total Gula

Hasil pengamatan menunjukkan rerata total gula kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. Total gula pada kombucha salak Suwaru berkisar antara 9,09% sampai 14,58% pada hari ke-0, 7,47% hingga 11,78% pada hari ke-7, dan 6,22% sampai 8,56% pada hari ke-14. Perubahan total gula pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.6**.



Gambar 4.6 Grafik Perubahan Total Gula pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.6** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, total gula kombucha salak Suwaru akan semakin menurun. Semakin tinggi kultur yang ditambahkan, total gula yang dihasilkan juga akan mengalami penurunan. Namun semakin tinggi konsentrasi gula yang diberikan, akan meningkatkan total gula kombucha salak Suwaru. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan gula memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap penurunan total gula kombucha salak Suwaru selama proses



fermentasi, sedangkan perlakuan penambahan kultur tidak memberikan pengaruh yang nyata, serta tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. Total gula terendah terjadi di hari ke-14 pada kombucha dengan perlakuan penambahan gula sebesar 7,5% dan penambahan kultur sebesar 10%. Rerata total gula kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.8**.

Tabel 4.8 Rerata Total Gula Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi

Konsentrasi Gula (%)	Total Gula (%)			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Penurunan	
7,5	9,77	6,80	2,98(a)	0,35
10	12,93	8,21	4,72(b)	

Tabel 4.8 menunjukkan bahwa penurunan terbesar terjadi pada perlakuan penambahan gula sebesar 10%. Hal ini diduga karena gula yang ditambahkan dalam kombucha dimanfaatkan kultur kombucha untuk bermetabolisme sehingga terjadi penurunan total gula. Semakin tinggi konsentrasi gula maka semakin banyak pula gula yang dapat dimanfaatkan bakteri dan khamir. Menurut Hartanto (2000), aktivitas mikroba dapat diketahui dari berkurangnya total gula dalam medium. Jika mikroba tumbuh secara optimal maka gula yang tersisa dalam sampel akan semakin sedikit jumlahnya. Anugrah (2005) menyatakan bahwa penurunan total gula pada kombucha disebabkan oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

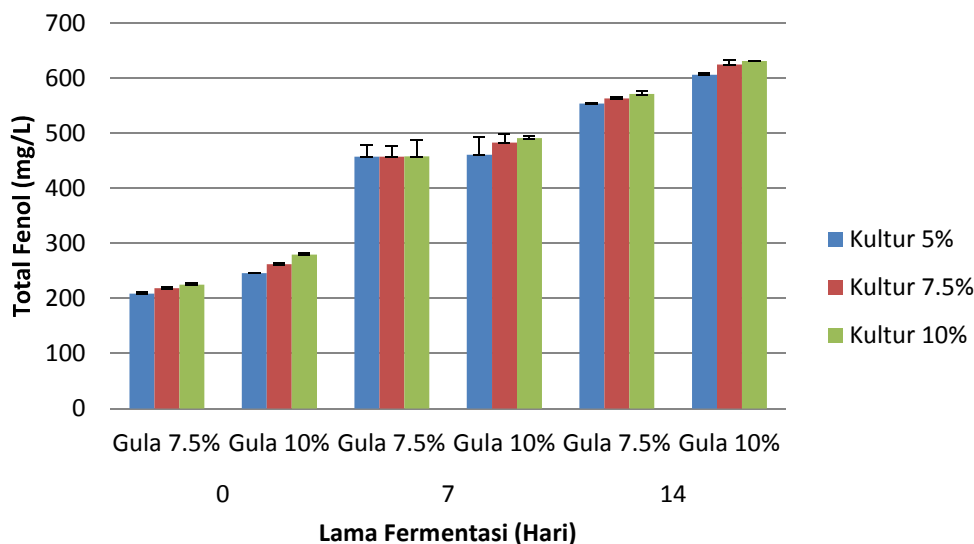
Khamir akan melakukan proses perombakan terhadap sukrosa sehingga didapatkan glukosa dan fruktosa. Glukosa yang dihasilkan akan digunakan untuk metabolisme sehingga didapatkan metabolit berupa asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukoronat. Selanjutnya glukosa akan dirombak menjadi alkohol dan CO₂. Fruktosa hanya digunakan oleh bakteri dan khamir dalam jumlah rendah. Cvetkovic et al. (2007), menyatakan bahwa bakteri asam asetat tidak dapat memanfaatkan fruktosa karena kekurangan enzim hidrolase dan kinase, sedangkan khamir dapat memfermentasi fruktosa dengan cara fosforilasi oleh enzim heksokinase (fruktokinase) menjadi fruktosa-6-fosfat yang kemudian masuk ke dalam jalur glikolisis. Bakteri *Acetobacter xylinum* juga ikut berperan



dalam perombakan gula pada kombucha salak Suwaru melalui proses oksidasi alkohol yang menghasilkan asam asetat dan asam organik lainnya (Aditiwati dan Kusnadi, 2003). Penambahan kultur tidak memberikan pengaruh yang nyata pada total gula kombucha salak Suwaru. Hal tersebut berkaitan dengan adanya faktor pembatas dalam proses fermentasi yaitu substrat. Terbatasnya substrat dalam medium akibat proses fermentasi, menyebabkan terhambatnya pertumbuhan kultur seiring dengan berjalannya waktu fermentasi sehingga kultur akan mengalami fase yang stasioner (Rofiq, 2003).

4.2.6 Total Fenol

Hasil pengamatan menunjukkan rerata total fenol kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. Total fenol pada kombucha salak Suwaru berkisar antara 208,68 mg/L sampai 279,14 mg/L pada hari ke-0, 457 mg/L hingga 490,83 mg/L pada hari ke-7, dan 553,43 mg/L sampai 631,1 mg/L pada hari ke-14. Perubahan total fenol pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.7**.



Gambar 4.7 Grafik Perubahan Total Fenol pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.7** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, total fenol kombucha salak Suwaru akan semakin meningkat. Semakin tinggi kultur dan gula yang ditambahkan, total fenol yang dihasilkan juga akan



mengalami peningkatan. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kultur dan gula memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap peningkatan total fenol kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi, namun tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. Total fenol tertinggi terjadi di hari ke-14 pada kombucha dengan perlakuan penambahan kultur dan gula, masing – masing sebesar 10%. Rerata total fenol kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.9**.

Tabel 4.9 Rerata Total Fenol Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi

Konsentrasi Kultur (%)	Total Fenol (%)			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Peningkatan	
5	227,34	579,53	352,19 (a)	
7,5	240,35	593,64	353,30 (b)	9,65
10	251,90	600,98	349,09 (b)	

Berdasarkan **Tabel 4.9** menunjukkan bahwa peningkatan total fenol tertinggi terjadi pada perlakuan penambahan kultur sebesar 7,5% dan 10%. Peningkatan ini diduga karena adanya aktivitas mikroba yang menyebabkan perubahan senyawa fenol kompleks menjadi lebih sederhana yang dapat meningkatkan kadar fenolik total. Bhattacharya (2013) menyatakan bahwa selama proses fermentasi, khamir dan bakteri membebaskan enzim yang dapat merombak polifenol menjadi senyawa yang lebih sederhana. Senyawa polifenol kompleks yang banyak terdapat dalam buah salak yaitu tanin. Khamir dapat mendegradasi tanin dengan menggunakan enzim tanase. Enzim ini memiliki fungsi sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis tanin. Tanase juga dapat mengkatalis reaksi hidrolisis tanin terkondensasi dan menghasilkan senyawa flavonoid (Seigler, 1998). Selain flavonoid dan tanin, salak juga mengandung beberapa senyawa aktif lainnya seperti alkaloid, terpenoid, kuinon, katekin, saponin, karotenoid, dan likopena. Jayabalan *et al.* (2007) menyatakan bahwa peningkatan total fenol dalam kombucha disebabkan karena adanya biotransformasi epigalokatekin galat menjadi epigalokatekin dan epikatekin galat menjadi epikatekin oleh enzim invertase dan pelepasan katekin dari sel khamir dalam kombucha. Menurut Saez (2010), *Saccharomyces cereviceae* yang

terdapat dalam kultur kombucha dapat mensintesis senyawa fenol bebas yaitu 4 etilfenol dan 4-etylguaiacol yang berasal dari asam hidroksinamat dan asam firulat. Suranto (2011) menambahkan bahwa asam sinamat dan asam firulat memiliki kelimpahan yang tinggi dalam dinding sel tanaman yang merupakan senyawa fenolik.

Rerata total fenol kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan gula selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.10**

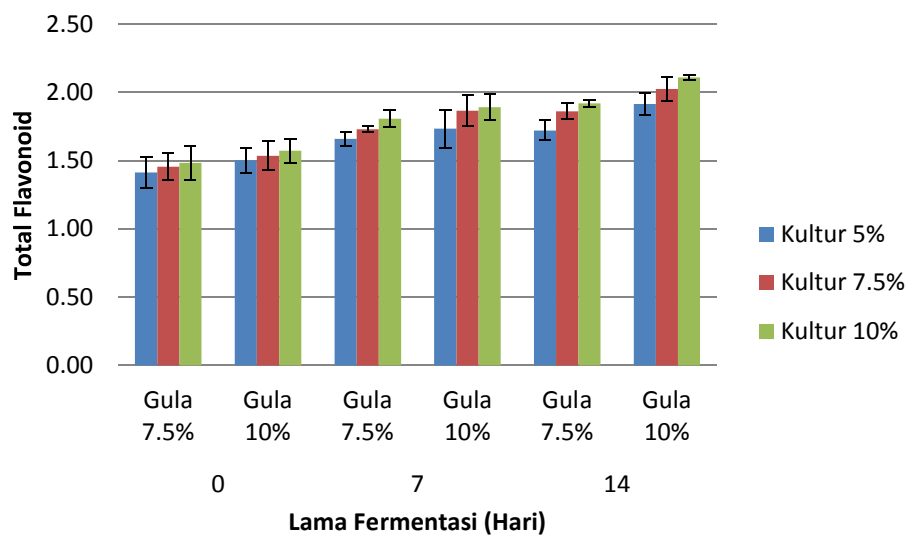
Tabel 4.10 Rerata Total Fenol Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi

Konsentrasi Gula (%)	Total Fenol (%)			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Peningkatan	
7,5	217,32	562,37	345,05 (a)	7,88
10	262,40	620,4	357,9 (b)	

Tabel 4.10 menunjukkan bahwa peningkatan total fenol tertinggi terjadi pada perlakuan penambahan gula sebesar 10%. Hal ini diduga karena mikroba memanfaatkan gula sebagai sumber nutrisi dan energi untuk melakukan metabolisme. Semakin tinggi gula dalam medium maka aktivitas mikroorganisme juga akan semakin tinggi. Aktivitas mikroorganisme menghasilkan metabolit berupa asam asetat dan alkohol yang menurut Mehta et al. (2012), adanya senyawa – senyawa tersebut dapat meningkatkan komponen fenolik bioaktif. *Saccharomyces cereviceae* juga menghasilkan enzim β -glukosidase yang dapat memecah ikatan glikosida sehingga dapat membebaskan senyawa fenol ke dalam medium fermentasi (Martins et al., 2011).

4.2.7 Total Flavonoid

Hasil pengamatan menunjukkan rerata total flavonoid kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. Total flavonoid pada kombucha salak Suwaru berkisar antara 1,42 mg QE/mL sampai 1,57 mg QE/mL pada hari ke-0, 1,66 mg QE/mL hingga 1,89 mg QE/mL pada hari ke-7, dan 1,72 mg QE/mL sampai 2,11 mg QE/mL pada hari ke-14. Perubahan total flavonoid pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.8**.



Gambar 4.8 Grafik Perubahan Total Flavonoid pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.8** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, total flavonoid kombucha salak Suwaru akan semakin meningkat. Semakin tinggi kultur dan gula yang ditambahkan, total flavonoid yang dihasilkan juga akan mengalami peningkatan. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kultur dan gula memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap peningkatan total flavonoid kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi, namun tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. Total flavonoid tertinggi terjadi di hari ke-14 pada kombucha dengan perlakuan penambahan kultur dan gula masing – masing sebesar 10%. Rerata total flavonoid kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.11**.

Tabel 4.11 Rerata Total Flavonoid Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi

Konsentrasi Kultur (%)	Total Flavonoid (mg QE/mL)			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Peningkatan	
5	1,46	1,82	0,36 (a)	0,05
7,5	1,50	1,95	0,45 (b)	
10	1,53	2,02	0,49 (b)	



Tabel 4.11 menunjukkan bahwa peningkatan total flavonoid terbesar terjadi pada perlakuan penambahan kultur sebesar 7,5% dan 10%. Hal tersebut diduga karena aktivitas mikroba dalam kombucha menghasilkan kompleks flavonoid, selain juga menghasilkan asam – asam organik dan alkohol. Peningkatan total flavonoid berjalan seiring dengan peningkatan total fenol. Selama fermentasi berlangsung, aktivitas kultur kombucha akan menghasilkan enzim yang dapat mensintesa gula dan membebaskan senyawa fenolik yang ada pada buah salak sehingga dapat menambah gugus fenol pada senyawa flavonoid. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gunther (1995), bahwa fermentasi dapat meningkatkan kadar fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan pada medium. Hal itu didukung oleh Perez dkk. (2010) yang menyatakan bahwa proses fermentasi dapat menyebabkan pelepasan enzim mikroba yang menghasilkan bentuk bebas dari komponen kimia tanaman seperti flavonoid, tanin, dan alkaloid. Fermentasi dapat meningkatkan kandungan flavonoid bebas pada pangan berbasis tanaman dengan menginduksi degradasi dinding sel yang pada akhirnya akan membebaskan atau bahkan menginduksi proses sintesa beberapa komponen bioaktif seperti flavonoid (Dordevic dkk., 2010).

Rerata total flavonoid kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan gula selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.12**

Tabel 4.12 Rerata Total Flavonoid Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi

Konsentrasi Gula (%)	Total Flavonoid (%)			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Peningkatan	
7,5	1,45	1,84	0,38 (a)	0,04
10	1,54	2,02	0,48 (b)	

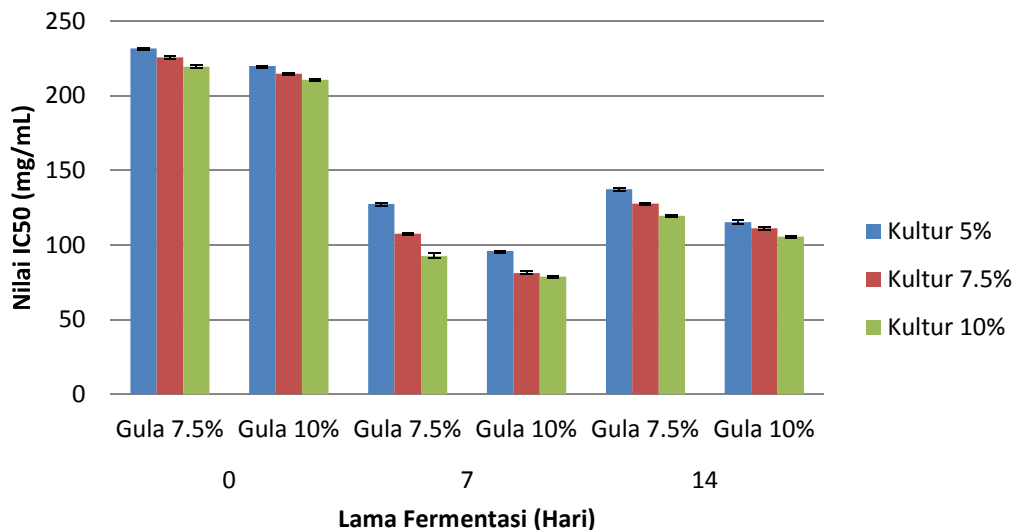
Berdasarkan **Tabel 4.12** diketahui bahwa peningkatan total flavonoid tertinggi terjadi pada perlakuan penambahan gula sebesar 10%. Hal ini diduga karena gula dalam kombucha digunakan oleh mikroorganisme untuk melakukan metabolisme. Hidrolisis gula oleh mikroba dapat membebaskan senyawa fenol dan flavonoid dalam medium fermentasi (Hubert *et al.*, 2008). Maka semakin tinggi kandungan gula dalam kombucha, total flavonoid akan mengalami peningkatan. Tingginya kandungan gula dapat memicu pertumbuhan bakteri dan



khamir dalam kombucha sehingga dapat merombak gula menjadi metabolit primer berupa asam asetat dan metabolit sekunder berupa polifenol. Polifenol mengandung senyawa seperti flavanol, flavandiol, dan flavonoid (Hung dan Yen, 2000). Selain itu, selama proses fermentasi berlangsung gula juga digunakan oleh mikroba untuk bermetabolisme dan menghasilkan enzim. Degradasi oleh enzim pada komponen flavonoid dan polifenol yang terdapat dalam tanaman dapat meningkatkan total flavonoid dalam media fermentasi (Kumari dan Kakkar, 2008).

4.2.8 Aktivitas Antioksidan

Pada penelitian ini, penilaian aktivitas antioksidan dilihat menggunakan nilai IC_{50} . Semakin tinggi nilai IC_{50} maka semakin rendah aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} kombucha salak Suwaru berkisar antara 207,54 – 240,16 mg/mL pada hari ke 0, 78,95 – 127,45 mg/mL pada hari ke 7, dan 104,95 – 157,45 mg/mL pada hari ke 14. Grafik perubahan nilai IC_{50} pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.9**.



Gambar 4.9 Grafik Perubahan Nilai IC_{50} pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.9** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, nilai IC_{50} kombucha salak Suwaru akan cenderung semakin menurun. Namun pada hari ke-14 nilai IC_{50} akan meningkat. Sedangkan semakin tinggi konsentrasi



kultur dan gula yang ditambahkan, nilai IC_{50} yang dihasilkan akan mengalami penurunan. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan gula memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap penurunan nilai IC_{50} kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi, sedangkan perlakuan penambahan kultur tidak memberikan pengaruh yang nyata serta tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. Nilai IC_{50} terendah terjadi di hari ke-7 pada kombucha dengan perlakuan penambahan kultur dan gula masing – masing sebesar 10%. Rerata nilai IC_{50} kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan gula selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.13**.

Tabel 4.13 Rerata Nilai IC_{50} Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi

Konsentrasi Gula (%)	Nilai IC_{50} (mg/mL)			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Penurunan	
7,5	225,49	128,26	98,23 (a)	2,61
10	215,02	110,75	104,26 (b)	

Berdasarkan **Tabel 4.13** menunjukkan bahwa penurunan nilai IC_{50} terbesar terjadi pada penambahan gula sebesar 10%. Semakin besar penurunan nilai IC_{50} yang terjadi maka aktivitas antioksidan pada kombucha semakin tinggi. Aktivitas antioksidan dalam kombucha dipengaruhi oleh total asam, total fenol, dan total flavonoid di dalamnya. Adanya gula yang menjadi sumber karbon bagi kultur kombucha untuk melakukan metabolisme menyebabkan terjadinya degradasi katekin dalam salak sehingga total fenol mengalami peningkatan dan mengakibatkan peningkatan aktivitas antioksidan pula karena senyawa fenol merupakan salah satu antioksidan primer (Goh *et al.*, 2012). Hasil metabolisme mikroorganisme selama fermentasi dapat menyebabkan peningkatan senyawa fenol karena adanya proses biotransformasi yang menghasilkan fenolik bebas. Lee *et al.* (2008) menyatakan bahwa dari 19 jenis senyawa fenol yang diteliti aktivitas anti komplementnya, diketahui bahwa flavonoid mampu menghambat aktivitas anti komplement dengan IC_{50} sebesar 4,2 μ g/mL. Flavonoid juga memiliki aktivitas antioksidan sehingga mampu mereduksi hidrogen peroksida, superoksida, dan radikal bebas (Chu dan Chen, 2006). Aktivitas antioksidan pada senyawa fenolik khususnya flavonoid terkait dengan gugus dan jumlah grup



hidroksil. OH aromatis merupakan penentu adanya donasi hidrogen dan penangkap radikal bebas oleh senyawa fenol (Dufresne dan Farnworth, 2000).

Selama proses fermentasi berlangsung, terjadi perombakan gula oleh bakteri dan khamir yang mengakibatkan terbentuknya asam – asam organik sehingga menimbulkan kondisi asam. Kondisi asam yang memiliki nilai pH 3 – 5 mengakibatkan pembentukan senyawa fenol melalui asam hidroksi dan asam ferulat. Degradasi keduanya dapat meningkatkan kadar fenol yang sejalan dengan peningkatan aktivitas antioksidan. Asam – asam organik yang dihasilkan antara lain asam asetat, asam laktat, asam sitrat, asam suksinat, asam malat, dan asam glukonat serta asam glukoronat. Adanya perombakan gula oleh bakteri dan khamir, menyebabkan tingginya aktivitas antioksidan karena bersifat sinergis dengan memberikan ion H^+ pada radikal bebas sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan primer (Malbasa *et al.*, 2008).

Namun selama proses fermentasi berlangsung, tidak selamanya aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan total asam, total fenol, dan total flavonoid. Terjadinya akumulasi asam – asam organik sehingga senyawa fenolik bersifat stabil. Senyawa fenol yang stabil sulit melepaskan proton H^+ yang dapat berikatan dengan DPPH sehingga sifat antioksidannya menurun. Kestabilan senyawa fenol memang dipengaruhi oleh pH. Hal ini sesuai dengan Markham (1988) yang menyatakan bahwa suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi stabil, sedangkan pada suasana basa senyawa fenol bersifat tidak stabil. Adanya oksigen dan enzim laktase dalam media dapat mengkatalis reaksi oksidasi p-difenol sehingga terbentuk p-kuinon. Elektron radikal yang terdapat pada p-difenol kemudian didelokasikan sehingga terbentuk konfigurasi yang stabil yaitu p-kuinon itu sendiri. Kestabilan senyawa fenolik juga terjadi karena keberadaan ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen pada senyawa fenolik terjadi dalam molekul itu sendiri maupun dengan molekul lain. Ikatan hidrogen biasanya terjadi pada dua gugus hidroksil yang berdekatan atau gugus hidroksil dengan gugus karbonil yang berdekatan (Matthew dan Abraham, 2006).

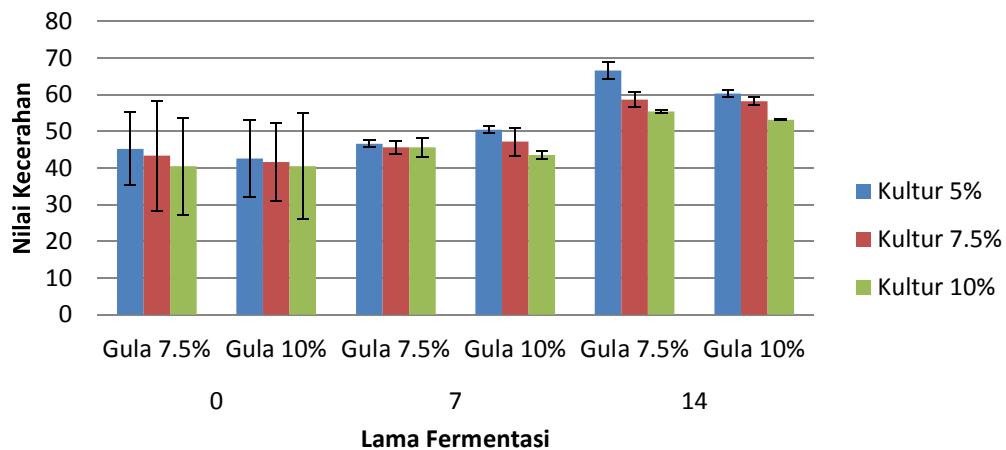
4.2.9 Warna

Warna suatu produk dipengaruhi oleh cahaya yang diserap dan dipantulkan. Warna menjadi parameter yang sangat penting karena merupakan salah satu indikator kesukaan konsumen pada produk (Naczki dan Shahidi,

2006). Pengukuran warna pada kombucha salak Suwaru menggunakan color reader yang meliputi kecerahan (L), kemerahan (a+), dan kekuningan (b+).

4.2.9.1 Kecerahan (L)

Hasil pengamatan menunjukkan rerata nilai kecerahan (L) kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. Nilai kecerahan (L) kombucha salak Suwaru berkisar antara 40,5 hingga 45,23 pada hari ke 0, 43,57 hingga 47,19 pada hari ke 7, dan 53,17 hingga 66,63 pada hari ke 14. Grafik perubahan nilai kecerahan (L) pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.10**.



Gambar 4.10 Grafik Perubahan Nilai Kecerahan (L) pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.10** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, nilai kecerahan (L) kombucha salak Suwaru akan semakin meningkat. Sedangkan semakin tinggi konsentrasi kultur dan gula yang ditambahkan, nilai kecerahan yang dihasilkan akan cenderung mengalami penurunan. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kultur memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap peningkatan nilai kecerahan kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi. Sedangkan perlakuan penambahan gula tidak memberikan pengaruh yang nyata, serta tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. Rerata nilai kecerahan (L) kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.14**.

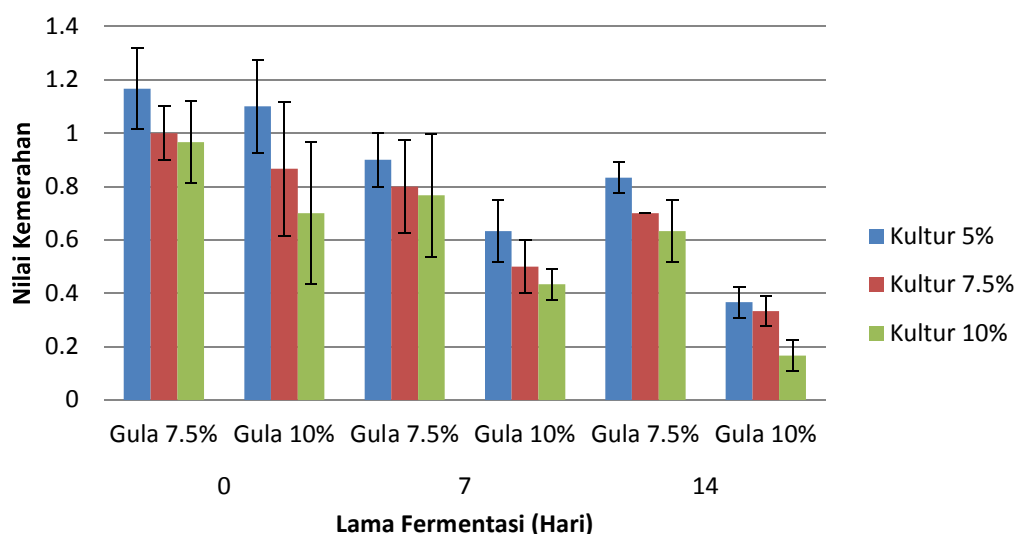
Tabel 4.14 Rerata Nilai Kecerahan Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi

Konsentrasi Kultur (%)	Nilai Kecerahan			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Peningkatan	
5	54,30	40,50	13,80 (a)	
7,5	58,45	42,53	15,92 (b)	4,44
10	63,47	43,92	19,55 (b)	

Tabel 4.14 menunjukkan bahwa peningkatan nilai kecerahan (L) tertinggi terjadi pada perlakuan penambahan konsentrasi kultur sebesar 10%. Peningkatan ini diduga karena pH kombucha yang asam sehingga warnanya menjadi semakin terang. Menurut Greenwalt *et al.* (2006), medium yang memiliki pH kurang dari 7 akan memberikan warna yang lebih terang atau cerah. Aktivitas mikroba dalam kombucha menyebabkan pH semakin asam karena menghasilkan asam – asam organik. Zat pigmen yang banyak terdapat dalam salak yaitu katekin, dapat terdegradasi ketika suasana menjadi asam (Potter dan Hotchkiss, 1995). Kerusakan zat ini lah yang menyebabkan nilai kecerahan kombucha salak Suwaru mengalami peningkatan.

4.2.9.2 Kemerahan (a+)

Hasil pengamatan menunjukkan rerata nilai kemerahan (a+) kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. Nilai kemerahan (a+) kombucha salak Suwaru berkisar antara 0,7 hingga 1,17 pada hari ke 0, 0,43 hingga 0,9 pada hari ke 7, dan 0,17 hingga 0,83 pada hari ke 14. Grafik perubahan nilai kemerahan (a+) pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.10**.



Gambar 4.11 Grafik Perubahan Nilai Kemerahan (a+) pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.11** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, nilai kemerahan (a+) kombucha salak Suwaru akan semakin menurun. Sedangkan semakin tinggi konsentrasi kultur dan gula yang ditambahkan, nilai kecerahan yang dihasilkan juga akan cenderung mengalami penurunan. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan gula memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap penurunan nilai kemerahan (a+) kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi. Sedangkan perlakuan penambahan kultur tidak memberikan pengaruh yang nyata, serta tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. Rerata nilai kemerahan (a+) kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan gula selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.15**.

Tabel 4.15 Rerata Nilai Kemerahan Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Gula Selama Fermentasi

Konsentrasi Gula (%)	Nilai Kemerahan			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Penurunan	
7,5	1,04	0,72	0,32 (a)	0,20
10	0,89	0,29	0,6 (b)	

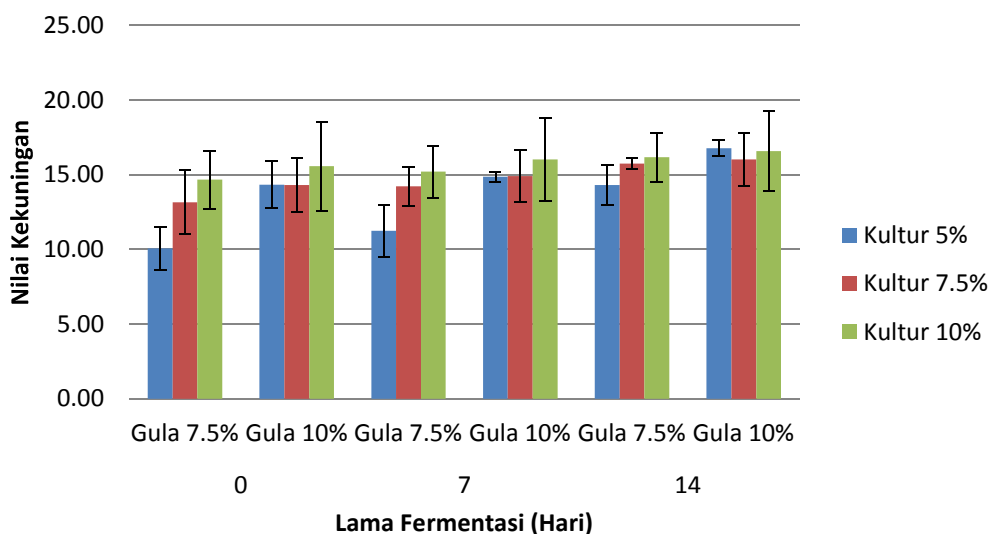
Berdasarkan **Tabel 4.15**, penurunan tertinggi terjadi pada penambahan gula sebesar 10%. Hal ini diduga karena pada penambahan gula 10% aktivitas



mikroorganisme dalam kombucha salak Suwaru semakin tinggi. Aktivitas bakteri dan khamir yang tinggi akan menghasilkan asam – asam organik yang dapat menurunkan pH. Zat pigmen yang terdapat dalam salak yaitu tanin. Dalam pH yang rendah, tanin dapat terdegradasi. Hal ini didukung oleh pernyataan Potter dan Hotchkiss (1995) bahwa dalam larutan basa tanin akan memberikan warna coklat gelap, sedangkan pada suasana asam tanin akan mengalami kerusakan dan memudar.

4.2.9.3 Kekuningan (b+)

Hasil pengamatan menunjukkan rerata nilai kekuningan (b+) kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur. Nilai kekuningan (b+) kombucha salak Suwaru berkisar antara 10,08 hingga 15,57 pada hari ke 0, 11,25 hingga 16,02 pada hari ke 7, dan 14,32 hingga 16,78 pada hari ke 14. Grafik perubahan nilai kekuningan (b+) pada kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur dapat dilihat pada **Gambar 4.12**.



Gambar 4.12 Grafik Perubahan Nilai Kekuningan (b+) pada Kombucha Salak Suwaru dengan Berbagai Variasi Penambahan Gula dan Kultur Selama Fermentasi

Berdasarkan **Gambar 4.12** menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, nilai kekuningan (b+) kombucha salak Suwaru akan semakin meningkat. Sedangkan semakin tinggi konsentrasi kultur dan gula yang ditambahkan, nilai kecerahan yang dihasilkan akan cenderung mengalami peningkatan pula. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan



penambahan kultur memberikan perbedaan yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap penurunan nilai kecerahan kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi. Sedangkan perlakuan penambahan gula tidak memberikan pengaruh yang nyata, serta tidak terjadi interaksi antar perlakuan penambahan gula dan kultur. Rerata nilai kekuningan (b^+) kombucha salak Suwaru akibat pengaruh variasi penambahan kultur selama fermentasi ditunjukkan pada **Tabel 4.16**.

Tabel 4.16 Rerata Nilai Kekuningan Kombucha Salak Suwaru Akibat Pengaruh Variasi Penambahan Kultur Selama Fermentasi

Konsentrasi Kultur (%)	Nilai Kekuningan			BNT 5%
	Hari ke-0	Hari ke-14	Peningkatan	
5	12,21	15,55	3,34 (b)	1,60
7,5	13,74	15,9	2,16 (b)	
10	15,12	16,38	1,26 (a)	

Tabel 4.16 menunjukkan bahwa peningkatan tertinggi terjadi pada penambahan konsentrasi kultur sebanyak 5% dan 7,5%. Peningkatan nilai kekuningan ini diduga karena rusaknya zat pigmen tanin dalam kombucha salak Suwaru. Nilai kekuningan berbanding terbalik dengan nilai kemerahan. Zat tanin yang terdapat dalam buah salak memiliki warna kecoklatan sehingga jika terjadi kerusakan, tanin akan memudar dan memberikan warna kekuningan. Menurut Potter dan Hotchkiss (1995), dalam suasana asam, tanin akan mengalami degradasi sehingga menyebabkan turunnya nilai kekuningan. Pemberian kultur yang semakin tinggi ternyata tidak memberikan nilai kekuningan yang tinggi pula. Hal tersebut dipengaruhi oleh aktivitas mikroba di dalamnya. Pada perlakuan konsentrasi kultur sebesar 10% diduga banyak bakteri dan khamir yang mati pada hari ke-14, lalu mengendap dalam larutan sehingga hal tersebut mempengaruhi peningkatan nilai kekuningan dalam medium (Naidu, 2000).

4.10 Uji Organoleptik

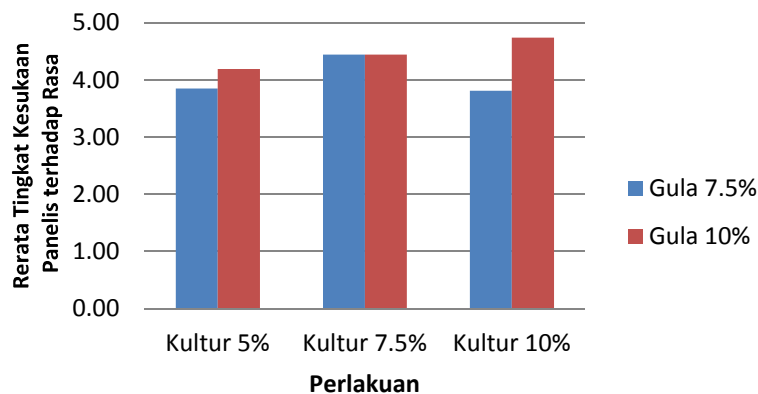
Pengujian organoleptik kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan kultur dan gula menggunakan metode Friedman dan melibatkan 27 panelis tidak terlatih. Dalam pengujian ini, panelis diminta untuk memberikan skor angka kesukaan terhadap produk yang berbeda atau yang disebut dengan uji hedonik. Tingkat kesukaan panelis terhadap rasa, warna, aroma, dan

kenampakan kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur ditunjukkan dengan skala hedonik yang meliputi sangat menyukai, menyukai, agak menyukai, netral, agak tidak menyukai, tidak menyukai, dan sangat tidak menyukai. Hasil uji hedonik dihitung dengan menggunakan rumus perbandingan berganda dan dinyatakan tidak berbeda nyata apabila :

$$\begin{aligned} [R_i - R_j] &\leq \frac{Z_{(1-\alpha)} \sqrt{bk(k-1)}}{k(k-1)} \\ &\leq \frac{Z_{(1-[0,05])} \sqrt{27 \times 6(6-1)}}{6(6-1)} \\ &\leq \frac{Z_{(0,9983)} \sqrt{162}}{6} \\ &\leq 39,87 \end{aligned}$$

4.10.1 Rasa

Rasa adalah parameter yang sangat penting dalam tingkat penerimaan produk oleh konsumen. Rerata nilai kesukaan panelis terhadap rasa kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur berkisar antara 3,81 (agak tidak menyukai) hingga 4,74 (netral). Rerata nilai kesukaan panelis terhadap rasa kombucha salak Suwaru dapat dilihat pada **Gambar 4.13**.



Gambar 4.13 Grafik Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Rasa Kombucha Salak Suwaru

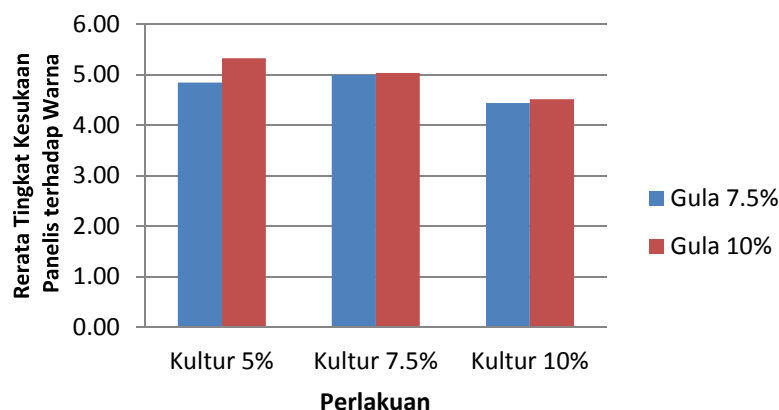
Analisa dengan menggunakan metode Friedman menunjukkan bahwa sampel memberikan pengaruh yang nyata pada tingkat kesukaan panelis terhadap rasa kombucha salak Suwaru. Berdasarkan **Gambar 4.13** diketahui bahwa kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula dan kultur sebesar



10% memiliki tingkat kesukaan panelis terhadap rasa yang paling tinggi yaitu 4,74. Sedangkan yang memiliki tingkat kesukaan terendah adalah kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula sebesar 7,5% dan konsentrasi kultur sebesar 10%. Uji lanjut perbandingan berganda menunjukkan bahwa respon panelis terhadap rasa kombucha salak Suwaru berbeda nyata pada konsentrasi gula 7,5% dan kultur 5% - konsentrasi gula 10% dan kultur 10%. Tingkat kesukaan panelis pada kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula dan kultur sebesar 10% diduga karena penambahan gula yang tinggi dapat memberikan rasa yang lebih disukai, sedangkan penambahan gula sebanyak 7,5% kurang memberikan rasa manis. Aktivitas mikroba dalam kombucha menghasilkan asam – asam organik sehingga menimbulkan rasa yang asam. Tingginya konsentrasi gula yang ditambahkan dapat mengimbangi rasa asam sehingga lebih disukai panelis.

4.10.2 Warna

Warna juga salah satu faktor yang penting dalam tingkat penerimaan produk oleh konsumen karena warna memberikan kesan pertama pada indera penglihatan. Warna yang menarik dapat mengundang selera konsumen untuk mencicipi produk. Jika warna produk kurang menarik, konsumen cenderung enggan mencicipinya. Penampilan warna produk yang disajikan merangsang syaraf melalui indera penglihatan sehingga dapat meningkatkan selera, maka selanjutnya aroma dan rasa makanan dapat ditentukan oleh rangsangan terhadap indera penciuman dan indera perasa (Anugrah, 2005). Rerata nilai kesukaan panelis terhadap warna kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur berkisar antara 4,44 (netral) hingga 5,33 (agak menyukai). Rerata nilai kesukaan panelis terhadap rasa kombucha salak Suwaru dapat dilihat pada **Gambar 4.14**.

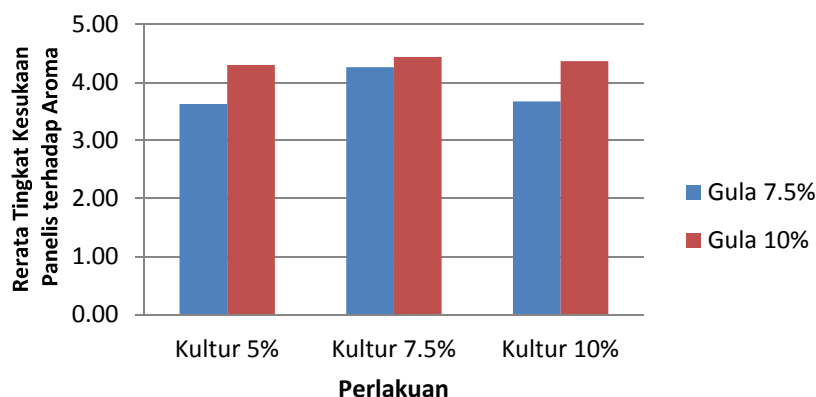


Gambar 4.14 Grafik Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Warna Kombucha Salak Suwaru

Analisa dengan menggunakan metode Friedman menunjukkan bahwa sampel memberikan pengaruh yang nyata pada tingkat kesukaan panelis terhadap rasa kombucha salak Suwaru. Berdasarkan **Gambar 4.14** diketahui bahwa kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula sebesar 10% dan kultur sebesar 5% memiliki tingkat kesukaan panelis terhadap warna yang paling tinggi yaitu 5,33. Sedangkan yang memiliki tingkat kesukaan terendah adalah kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula sebesar 7,5% dan konsentrasi kultur sebesar 10%. Uji lanjut perbandingan berganda menunjukkan bahwa respon panelis terhadap warna kombucha salak Suwaru berbeda nyata pada konsentrasi gula 7,5% dan kultur 10% - konsentrasi gula 10% dan kultur 5% serta konsentrasi gula 10% dan kultur 5% - konsentrasi gula 10% dan kultur 10%. Tingkat kesukaan terendah terhadap kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula sebesar 7,5% dan konsentrasi kultur sebesar 10% diduga karena tingginya kultur yang ditambahkan dapat menyebabkan degradasi zat pigmen dalam kombucha sehingga warna yang dihasilkan cenderung memudar. Menurut Anugrah (2005), selama fermentasi akan terjadi perubahan warna yang disebabkan oleh penurunan pH. Dalam kondisi asam, warna kombucha yang awalnya memiliki warna coklat menjadi memudar dan menjadi kurang menarik.

4.10.3 Aroma

Rerata nilai kesukaan panelis terhadap aroma kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur berkisar antara 3,63 (agak tidak menyukai) hingga 4,44 (netral). Rerata nilai kesukaan panelis terhadap aroma kombucha salak Suwaru dapat dilihat pada **Gambar 4.15**.



Gambar 4.15 Grafik Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Aroma Kombucha Salak Suwaru

Analisa dengan menggunakan metode Friedman menunjukkan bahwa sampel memberikan pengaruh yang nyata pada tingkat kesukaan panelis terhadap aroma kombucha salak Suwaru. Berdasarkan **Gambar 4.15** diketahui bahwa kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula sebesar 10% dan kultur sebesar 7,5% memiliki tingkat kesukaan panelis terhadap warna yang paling tinggi yaitu 4,44. Sedangkan yang memiliki tingkat kesukaan terendah adalah kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula sebesar 7,5% dan konsentrasi kultur sebesar 5%. Uji lanjut perbandingan berganda menunjukkan bahwa respon panelis terhadap aroma kombucha salak Suwaru berbeda nyata pada konsentrasi gula 7,5% dan kultur 5% - konsentrasi gula 7,5% dan kultur 7,5%; konsentrasi gula 7,5% dan kultur 5% - konsentrasi gula 10% dan kultur 5%; konsentrasi gula 7,5% dan kultur 5% - konsentrasi gula 10% dan kultur 7,5%; konsentrasi gula 7,5% dan kultur 5% - konsentrasi gula 10% dan kultur 10%; konsentrasi gula 7,5% dan kultur 7,5% - konsentrasi gula 7,5% dan kultur 10%; konsentrasi gula 7,5% dan kultur 10% - konsentrasi gula 10% dan kultur 5%; konsentrasi gula 7,5% dan kultur 10% - konsentrasi gula 10% dan kultur 7,5%; konsentrasi gula 7,5% dan kultur 10% - konsentrasi gula 10% dan kultur 10%; konsentrasi gula 10% dan kultur 5% - konsentrasi gula 10% dan kultur 7,5%. Selama fermentasi, kultur kombucha menghasilkan asam – asam organik dan senyawa volatil sebagai hasil metabolit dengan memanfaatkan gula yang menyebabkan munculnya aroma yang kuat dan khas. Anugrah (2005) menyatakan bahwa kultur kombucha memiliki peran yang besar dalam menghasilkan aroma pada kombucha. Kultur kombucha menghasilkan komponen berupa asam volatil seperti asam format, asam asetat, asam



propionat, dan asam butirat, serta senyawa karbonil seperti asetaldehid, aseton, diasetil, dan berbagai komponen lain yang dapat memberikan aroma khas kombucha.

4.11 Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik kombucha salak Suwaru dianalisa dengan menggunakan metode *Multiple Attribute Zeleny*. Parameter yang dianalisa meliputi total bakteri, total khamir, total asam, pH, total gula, total fenol, total flavonoid, nilai IC_{50} , dan warna. Nilai ideal yang diharapkan pada parameter total bakteri, total khamir, total asam, total fenol, dan total flavonoid adalah nilai maksimal. Nilai ideal yang diharapkan untuk parameter total gula, pH, dan nilai IC_{50} adalah nilai minimal. Berdasarkan perhitungan, kombucha salak Suwaru dengan konsentrasi gula dan kultur sebesar 10% merupakan kombucha salak Suwaru dengan perlakuan terbaik (**Lampiran 4**). Nilai masing – masing parameter kombucha salak Suwaru dengan perlakuan terbaik ditunjukkan pada

Tabel 4.17.

Tabel 4.17 Karakteristik Kombucha Salak Suwaru Perlakuan Terbaik

Parameter	Perlakuan Terbaik
Total bakteri (CFU/mL)	$5,5 \times 10^6$
Total khamir (CFU/mL)	$6,1 \times 10^8$
Total asam (%)	1,41
pH	2,75
Total gula (%)	7,45
Total fenol (mg/L)	553,43
Total flavonoid (mg QE/mL)	1,72
Nilai IC_{50} (mg/mL)	137,45
Nilai L^*	45,23
Nilai a^+	0,83
Nilai b^+	14,32
Organoleptik rasa	4,74 (netral)
Organoleptik warna	4,52 (netral)
Organoleptik aroma	4,37 (netral)



BAB V KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kultur dan gula memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap parameter total asam, pH, total fenol, total flavonoid, dan pengujian organoleptik baik rasa, warna, dan aroma. Perlakuan penambahan gula memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap parameter total gula, nilai kemerahan, dan aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} . Perlakuan penambahan kultur ($\alpha = 0,05$) berpengaruh nyata terhadap parameter nilai kecerahan dan nilai kekuningan.
2. Kombucha salak Suwaru dengan berbagai variasi penambahan gula dan kultur memiliki perlakuan terbaik yaitu penambahan gula dan kultur masing – masing sebesar 10%.
3. Perlakuan terbaik kombucha salak Suwaru dengan penambahan gula dan kultur masing – masing sebesar 10% memiliki karakteristik fisik, kimia, dan mikrobiologi sebagai berikut: total bakteri $5,5 \times 10^6$ CFU/mL, total khamir $6,1 \times 10^8$ CFU/mL, total asam 1,41%, pH 2,75, total gula 7,45%, total fenol 553,43 mg/L, total flavonoid 1,72 mg QE/mL, nilai IC_{50} 137,45 mg/mL, tingkat kecerahan (L^*) 45,23, tingkat kemerahan (a^+) 0,83, tingkat kekuningan (b^+) 14,32, organoleptik rasa 4,74 (netral), organoleptik warna 4,52 (netral), organoleptik aroma 4,37 (netral).

5.2 Saran

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut yang dapat mengidentifikasi senyawa – senyawa yang dihasilkan kombucha salak Suwaru selama proses fermentasi baik secara kualitatif maupun kuantitatif.



DAFTAR PUSTAKA

- Adiwati dan Kusnadi. 2003. **Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme Yang Berperan Dalam Fermentasi Tea Cider**. ITB Sains dan Teknologi. Bandung. Vol. 35 No. 2.
- Akhmad, S. A. 2009. **Panduan Lengkap Kehamilan, Persalinan & Perawatan Bayi**. Diglossia Media. Yogyakarta.
- Amerine, M.A. dan Kunkee, R.E. 2005. **Microbiology of Winemaking**. Am. Rev. Microbiol., 22: 232-258.
- Anugrah, S.T. 2005. **Pengembangan Produk Kombucha Probiotik Berbahan Baku Teh Hitam**. Skripsi. Bogor: FTP IPB.
- Apak, R., K. Guclu, dan Demirata, M. 2007. **Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPPRAC Assay**. Molecules, 12 : 1496-1547.
- Apriyanto, A. 1989. **Analisa Pangan**. IPB Press. Bogor.
- Aralas, S., Maryati, M., dan Moh, B.A.F. 2009. **Antioxidant Properties of Selected Salak (*Salacca zalacca*) Varieties in Sabah, Malaysia**. Nutrition and Food Science Journal. Vol 39 (3). Halaman. 243-250
- Ardiansyah. 2007. **Antioksidan dan Perannya Bagi Kesehatan**. Dilihat 16 Januari 2017. www.ardiansyah.multiply.com/journal/item/14.
- Asseghaf, F. 2009. **Prospek Produksi Bioetanol Bonggol Pisang Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Enzimatis**. Tanggal akses 18 Mei 2017.
- Backer, C. A. and R.C. Bachuizen Van Den Brink Jr., Ph.D. 1968. **Flora Of Java Edisi III**. N.V.P. Noordhroff. Netherlands.
- Barnes, C. 1996. **Exploring The Divide: Illness And Disability Leads**. The Disability Press. USA.
- Bhattacharya, S., Gachhui, R. dan P.C. Sil. 2013. **Effect of Kombucha, A Fermented Black Tea In Attenuating Oxidative Stress Mediated Tissue Damage In Alloxan Induced Diabetic Rats**. Food dan Chemical Toxicology Journal Vol 60: 328 – 340.
- Bowo, H. dan Sukartiningrum. 2011. **Biodiversity Of Salak Plant (*Salacczalacca* (Gaertner) Voss)**. Natural Resources Climate



Change and Food Security in Developing Countries Proceeding. UPN Veteran. Surabaya. pp. 1-3

Chu, C. S. and Chen. 2006. **Effect of Origin and Fermentation Time on The Antioxidant Activities of Kombucha**. Food Chemistry Journal Vol 98:502-507.

Cvetkovic, V., A. Frampton, S. Painter, J.O Selroos. 2007. **Upscaling Particle Transport In Discrete Fracture Networks**. Serbian.

Dalimartha, S. dan Soedibyo, M., 1999. **Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen**. Trubus Agriwidya. Jakarta. Hal. 36-40.

Desmiaty, Y., Ratih, H., Dewi, M. A., dan Agustin, R. 2008. **Penentuan Jumlah Tanin Total Pada Daun Jati Belanda (Guazuma Ulmifolia Lamk) Dan Daun Sambang Darah (Excoecaria Bicolor Hassk) Secara Kolorimetri Dengan Pereaksi Biru Prusia**. Ortocarpus Journal Vol 8 : 106 – 109

Dewi, E.K. 2013. **Alokasi Pendapatan Rumah Tangga Tani Salak Pondoh Untuk Konsumsi Pangan Dan Non Pangan Di Desa Bangunkerto Kecamatan Turi Kabupaten Sleman Yogyakarta**. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Dewantari, F. J. dan Zubaidah, E. 2016. **Karakteristik Fisikokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Berbagai Varietas Buah Salak (Salacca Zalacca)**. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.

Dimiyati, A., Kuntarsh S., Iswari D., dan Nurcahya S. 2009. **Meeting The Requirements of International Market for Salacca (Case Study: Export Challenge of Salacca “Pondoh” Variety to China)**. Proceeding of the 19th IAMA Annual World Forum and Symposium, in Budapest. Hungary.

Dordevic, T.M., Šiler-Marinkovic, S.S.dan Dimitrijevic, Brankovic, S.I. 2010. **Effect Of Fermentation On Antioxidant Properties Of Some Cereals And Pseudo Cereals**. 119(3): 957-963.

Dufresne, C. dan Farnworth, E. 2000. **Tea, Kombucha, and health : a review**. Food Research International, 33, 409-421.

Frank, C. L. 1995. **Toksikologi Dasar (Azas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko)**. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.



Garman, P. M. Dan Sherrington, K. B. 2009. **Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi Edisi Kedua**. Yogyakarta: Universitas Gajahmada.

Goh, W.N., A. Rosma, B. Kaur, A. Fazilah, A.A. Karim, and R. Bhat. 2012. **Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on Yield of Microbial Cellulose**. International Food Research Journal. 19(1) : 109-117.

Greenwalt, C. J., R. A Ledford, and K. H Steinkraus. 2006. **Detoxification and Characterization of The Antimicrobial Activity of The Fermented Tea Kombucha**. John Wiley and Sons Inc. New York.

Gunther, F. 1995. **Kombucha Healthy Beverage and Natural Remedy from the Far East: Its Correct Preparation and Use**. German: Annsthaler Gesellschaaft GmbH & Co KG.

Hambali, E.S., Mudjalipah, A.H, Tambunan, A.W. Pattiwiri dan R. Hendroko. 2008. **Teknologi Pangan Terfermentasi**. Jakarta: Agromedia.

Hamid. 2010. **Antioxidant : Its Medicinal and Pharmacological Application**. African Jurnal : Of Pure and Applied Chemistry Vol.4 (8), pp. 142-151.

Harborne, J. B. 1987. **Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**. Terjemahan oleh Padmawinata K, Soedira I. 1996. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Hartanto, R., Raharjo, B. dan Suhardi. 2000. **Model Perubahan Gula Buah Salak Pondoh (*Salacca edulis* REINW Cultivar Pondoh) Pada Kondisi Atmosfer Termomodifikasi**. Agritech Vol 20 (1). Halaman 10-13.

Hatano. 1989. **Trace Elements (Copper, Zinc, Manganese, Selenium) in Plasma and Erythrocytes in Relation to Dietary Intake During Infancy**. Pediatr Gastroenterol Journal Vol 4: 87-92.

Hayati, E. K., Fasyah, A. G., dan Sa'adah, L. 2010. **Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.)**. Alchemy Journal Vol 4(2): 193 – 200.

Helen, A. 2013. **Kombucha**. America: United States Copyright Act of 1976.

Hidayati, N. 2013. **Sifat Fisik dan Kimia Buah Salak Pondoh di Kabupaten Sleman**. Yogyakarta: Akademi Pertanian Yogyakarta.



Hubert, J., Berger, M., Nepveu, F., Paul, F. dan Dayde, J. 2008. **Effects Of Fermentation On The Phytochemical Composition And Antioxidant Properties Of Soy Germ**. 109(4): 709-721.

Hui, Y. H. 1992. **Encyclopedia of Food Science and Technology**. USA : John Willy and Son Inc.

Hung, C.Y. dan Yen, G.C. 2000. **Effect Of Alkaline And Heat Treatment On Antioxidative Activity And Total Phenolic Of Extract From Hsian-Tsao**. 487-492.

Jayabalan, R., Marimuthu S. dan Swaminathan, K. 2007. **Changes In Content Of Organic Acids And Tea Polyphenol During Kombucha Tea Fermentation**. Food Chemistry Journal Vol 102: 392-394.

Junior, R.J.S., R.A. Batista, S.A. Rodrigues, L.X. Filho, and A.S. Lima. 2009. **Antimicrobial Activity of Broth Fermented with Kombucha Colonies**. J Microbiol. Biochem. Technology. 1(1):072-078.

Kanner, Joseph, Edwin Frankel, Rina Granit, Bruce German and John E. Kinsella. 1994. **Natural Antioksidant in Grapes and Wines**. Agriculture Food Chemistry Journal Vol (42): 64-69.

Kalel, L., V. Dwsseaux, M. Hamdi, P. Stocker, and Ajandouz, E.H. 2012. **Insights Into The Fermentation Biochemistry of Kombucha Teas and Potential Impact of Kombucha During on Starch Digestion**. Food Research International. 49:226-232.

Kumari, A. dan Kakkar, P. 2008. **Screening Of Antioxidant Potential Of Selected Barks Of Indian Medicinal Plants By Multiple In Vitro Assay**. 24-29.

Lee, I.H., Hung, Y.H. dan Chou, C.C. 2008. **Solid-State Fermentation With Fungi To Enhance The Antioxidative Activity, Total Phenolic And Anthocyanin Contents Of Black Bean**. 121(2): 150-156. Ma

Malanggia, L. P., Sangia, M. S., dan Paedonga, J. J. E. 2012. **Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)**. Jurnal Mipa Unsrat Online 1(1): 5 – 10.

Malbasa, R.V. Loncar E.S., Djuric M. 2008. **Comparison of the Products of Kombucha Fermentation on Sucrose and Molasses**. Food Chem, 106(3):1039-1045.



Manitto, P. 1992. **Biosintesis Produk Alami. Cetakan Pertama. Terjemahan Koensoemardiyah dan Sudarto.** Ellis Horwood Limited. New York.

Mariska, V.R. 2009. **Pengujian Kandungan Fenol Total Tomat (*Lycopersicum Esculentum*) Secara In Vitro.** Skripsi. Universitas Indonesia. Jakarta.

Markham, K.R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung.

Martins, S.S., I. Musatto, G. Martinez-Avila, J. Montanez-Saenz, C.N. Aguilar, and J.A. Teixeira. 2011. **Bioactive Phenolic Compounds: Production and Extraction by Solid-State Fermentation.** Review. Biotechnol. Adv. Vol 29:365-373.

Mathew, S. dan Abraham, T.E. 2006. **Studies On The Antioxidant Activities Ofcinnamon Bark Extracts, Through Various In Vitro Models.** 94(4): 520-528.

Mehta, B.M., Eldin K.A., Iwanski R.Z. 2012. **Fermentation Effect on Food Properties.** London: CRC Press.

Muchtady, D. 1978. **Perubahan Fisiko Kimia Buah Salak Kalengan Selama Penyimpanan.** Tesis. IPB, Bogor.

Naczki, M. dan Shahidi, F. 2006. **Phenolics In Cereals, Fruits And Vegetables: Occurrence, Extraction And Analysis.** 41(5): 1523-1542.

Naidu, A.S. 2000. **Natural Food Antimicrobial System: Probiotics.** New York: CRC Press. Pg 431-462.

Nainggolan, J. 2009. **Kajian Pertumbuhan Bakteri Acetobacter sp. Dalam Kombucha Rosela Merah (*Hibiscus sabdariffa*) Pada Kadar Gula dan Lama Fermentasi Yang Berbeda.** Tesis. USU. Medan.

Naland, H. 2004. **Kombucha Teh Ajaib Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit.** PT Agro Media Pustaka. Jakarta.

Okoli, R. I., A. A. Turay, J.K. Mensah, and A. O. Aigbe. 2009. **Phytochemical and Antimicrobial Properties of Four Herbs.** Edo State, Nigeria. Report and Opinion. 1 (5):67-73. ISSN: 1553-9873.

Ong dan Law. 2009. **Kandungan Salak dan Teknik Persemaian benih Salak. Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan.** Purwobinangun. Yogyakarta.



Perez, G. dan Maria, R. 2010. **Identification and Quantification of Flavonoids in Traditional Cultivars of Red and White Onion at Harvest.**

Journal of Food Composition and Analysis. Vol 23. Hal 592-598.

Potter, N.N. dan Hotchkiss. 1995. **Food Science.** Connecticut: The AVI Publishing.

Prescott, S. G and C. G. Dunn. 1959. **Industrial Microbiology.** McGraw-Hill Book Company. New York.

Prangdimurti, E. 2009. **Minuman Fermentasi Asam Laktat.**
<https://plus.google.com/100070004133669822233/posts/BXYLKtnfeL>

Rahayu, W.P. 2001. **Penuntun Praktikum Penilaian Organoleptik. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi.** Fakultas Teknologi Pangan. IPB. Bogor.

Rajalakshmi, D dan S. Narasimhan. 1985. **Food Antioxidants: Sources and Methods of Evaluation.** Marcel Dekker Inc. Hongkong. pp 76-77.

Redha, A. 2010. **Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis.** Jurnal Belian Vol. 9 No. 2 Halaman 196 – 202.

Reynertson, K.A., Basile, M.J., dan Kennelly, E.J. 2007. **Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits.** Journal of Plants, People and Research.

Rezaee, M. A. 2005. **Expression of Eschericia coli heat-labile enterotoxin B subunit (LTB) in Saccharomyces cereviceae.** J Microbiol 43(4):354-60.

Rishasari, I., 2001. **Pemanfaatan Tanin Sebagai Bahan Pengawet Kayu.** Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan.

Robinson, T. 1995. **Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi.** Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung.

Rofiq, M.N. 2003. **Pengaruh Inhibisi Teh Fermentasi Kombucha Terhadap Bakteri Salmonella Pullorum Secara In Vitro.** Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia Vol. 4(5) Halaman 186-189

Rukmana, R. 1999. **Salak, Prospek Agribisnis dan Teknik Usaha Tani.** Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Sa'adah, L. 2010. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).** Skripsi. Jurusan Kimia Saintek UIN. Malang.



Saez, J.S., Lopes, C.A., and M.P. Sangorin. 2010. **Enhanced Volatile Phenol in Wine Fermented with *Saccharomyces cereviceae***. Journal of Applied Microbiology. Vol. 51(2):170-176.

Sahputra, M.F. 2008. **Potensi Ekstrak Kulit dan Daging Buah Salak sebagai Antidiabetes**. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Seigler, D.S. 1998. **Plant Secondary Metabolism**. London: Kluwer Academic Publishers Boston.

Setiawan, B. A. S. dan David, W. G. D. 2000. **Carotenoid Content Of Selected Indonesian Fruits**. Food Comp and Analysis Journal Volume 14: 169-176.

Siswono, 2005. **Penderita Kanker Terus Meningkat, Indonesia Kekurangan Dokter Bedah Onkologi**. Dilihat tanggal 11 Januari 2017. <http://www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newsid111198643>

Sobir. 2009. **Sukses Bertanam Pepaya Unggul Kualitas Supermarket**. Agromedia. Jakarta.

Sreeramulu G, Zhu Y, dan Knol, W. 2000. **Kombucha Fermentation and Its Antimicrobial Activity**. Agriculture Food Chemistry Journal Volume 886: 65-73.

Strycharz, S. dan Shetty, K. 2002. **Effect Of Agrobacterium Rhizogenes On Phenolic Content Of Mentha Pulegium Elite Clonal Line Phytoremeditation Applications**. Process Biochemistry Journal (38): 287-293

Sucipto. 2000. **Jamur Teh Atasi Kencing Manis**. Suara Merdeka. Hal VIII.

Suprapti, L. 2003. **Pembuatan Tempe**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Suranto, A. 2011. **Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit**. Jakarta: Pustaka Bunda.

Susanto, T. dan Yuwono, S. 2001. **Pengujian Fisik Pangan**. Unesa University Press. Surabaya.

Suter, I. K. 1988. **Telaah Sifat Buah Salak Bali Sebagai Dasar Pembinaan Mutu Hasil**. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Teng, Y. 2009. **Lux et Tenebris: Nucleotide Resolution DNA Repair And Nucleosome Mapping**. Methods 48(1):23-34.

Tjahjadi, C. dan H. Marta. 2011. **Pengantar Teknologi Pangan**. Universitas Padjajaran. Bandung



Usoh, I.F, Akfan, Etim, dan Farombi. 2005. **Antioxidant Actions of Dried Flower Extract of *Hibiscus sabdariffa* L. On Sodium Arsenite - Induced Oxidative Stress in Rats**, Pakistan Journal of Nutrition Volume 4 (3), Hal 135-141.

Vaya, J., dan Aviram, M. 2001. **Nutritional Antioxidants: Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications**. Curr. Med. Chem.-Imm. Endoc. and Metab. Agents, 1 (1).

Volk, W. A. dan M.F Wheeler. 2003. **Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid 1**. Jakarta : Penerbit Erlangga

Watawana, M. I. 2016. **Application Of The Kombucha Tea Fungus For The Enhancement Of Antioxidant And Starch Hydrolase Inhibitory Properties Of Ten Herbal Teas**. Food Chem. 194: 304-311.

Widuri, Hesti, Mawardi, dan Dedi. 2013. **Komponen Gizi dan Bahan Makanan untuk Kesehatan**. Gosyen Publishing, Yogyakarta.

Widyastuti, Y.E. 1996. **Mengenal Buah Unggul Indonesia**. Penebar Swadaya. Jakarta. Halaman 258.

Wood, B.J.B. 1998. **Microbiology of Fermented Foods**. Elsevier Applied Science Publisher. London.

Yang, X. L., Hseih, K.L., dan Liu J.K. 2006. **Free Radical Scavenging Activity and Total Phenol of Noni Juice and Powder in Processing and Storage**. www.alnoni.com. Diakses tanggal 25 Januari 2017.

Zeleny, M. 1982. **Multiple Criteria Decision Making**, 2 ed. McGrawHill. New York

Zubaidah, E. dan Yohanes. 2011. **Pengaruh Jenis buah (Salak dan Apel) serta Konsentrasi Ragi Roti (*Dry Instant Yeast*) Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Cuka Salak (*Salacca zalacca*) dan Cuka Apel (*Malus sylvestris*)**. Jurnal Teknologi Pertanian, Vol.14 No.3.